

**Univerzita Palackého v Olomouci**

**Bakalářská práce**

**Olomouc 2014**

**Magda Sumarová**

**Univerzita Palackého v Olomouci**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra buněčné biologie a genetiky**



**Identifikace genů indukujících kvetení u**  
*Arabidopsis thaliana a Triticum aestivum*

**Bakalářská práce**

**Magda Sumarová**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie  
Forma studia: Prezenční

Olomouc 2014

vedoucí práce: RNDr. Jan Šafář Ph.D.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně, s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Olomouc 2014

Magda Sumarová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala RNDr. Janu Šafářovi Ph.D. za jeho cenné rady, ochotu, trpělivost a čas, které mi věnoval při psaní této bakalářské práce.

## Souhrn

Existence každého organismu je závislá na reprodukci neboť reprodukce zachovává pokračování druhu. Správné načasování doby kvetení je proto velmi důležité a pomáhá zajistit reprodukční úspěch. U *Arabidopsis thaliana* řídí procesy kvetení několik důležitých, regulačních drah. Jednou z nejlépe probádaných drah je photoperiodická dráha, která je řízená světlem a délkou dne. Hlavní geny, které, působí ve fotoperiodické dráze se nazývají *CONSTANS* a *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Produkt genu *FT* nebo spíš jeho protein vzniklý translací se přímo podílí na přechodu rostliny z vegetativní fáze do fáze generativní. Působí totiž jako florigenový stimul na geny, které následně spouští přechod do reproduktivní fáze. Rostlina je schopná kromě délky dne a světla vnímat i teplotu. Vernalizační dráha s vernalizačními geny a genem *FLC* zajišťuje rostlině správné načasování doby kvetení do vhodných klimatických podmínek, obvykle po proběhnutí zimního období. U obilovin mírného pásma jako je pšenice nebo ječmen byly rovněž popsány některé podobné geny ke genům *Arabidopsis*. Doba kvetení je u nich řízená ještě třetí skupinou genů, které zodpovídají za finální a jemné doladění kvetení. Jsou označovány jako geny ranosti neboli *earliness per se*. Tyto geny, které se nachází v regulačních drahách a signály z vnějšího a vnitřního prostředí dohromady řídí indukci doby kvetení.

## Summary

The existence of each organism depends on the reproduction, because reproduction preserves the continuation of the species. True timing of flowering time is therefore very important and it helps to ensure reproductive success. In *Arabidopsis thaliana* several pathways are involved in induction of the flowering. Day length and light control the most significant photoperiodic pathway. In this pathway genes *CONSTANS* and *FLOWERING LOCUS T* act central role. Product of *FT* directly controls transition from vegetative to reproductive development. It is for a long time searched florigen signal, that effects transition to reproductive phase. The plant can feel the temperature apart from the day length and the light. The vernalization pathway with vernalization genes and *FLC* gene ensure the right timing of flowering in useful climatic terms, usually when the winter runs over. In temperate cereals like wheat and barley exist some similar genes like in *Arabidopsis*. Flowering time is controlled the third group of genes, that are responsible to finally tuning of flowering. They are called earliness per se. These genes involved in the regulation pathways and signals form conditions response together for the induction of flowering time.

1	ÚVOD .....	1
2	CÍLE PRÁCE.....	2
3	REPRODUKCE ROSTLIN .....	3
4	VEGETATIVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ .....	3
5	POHLAVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ .....	3
6	ROZMNOŽOVÁNÍ SEMENNÝCH ROSTLIN .....	4
6.1	NAHOSEMENNÉ ROSTLINY .....	4
6.2	KRYTOSEMENNÉ ROSTLINY .....	6
7	MODELOVÁ ROSTLINA ARABIDOPSIS THALIANA L.....	7
7.1	ZÁKLADNÍ GENY KVETENÍ .....	7
8	INTEGRÁTOROVÉ GENY .....	10
9	DRÁHY INDUKCE KVETENÍ .....	11
9.1	VNITŘNÍ OSCILÁTOR ROSTLIN .....	12
9.2	FOTOPERIODICKÁ DRÁHA .....	12
9.3	VERNALIZAČNÍ DRÁHA .....	16
9.4	GIBERELINOVÁ DRÁHA .....	19
9.5	PŮSOBENÍ MALÝCH RNA (miRNA).....	20
10	OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> .....	21
11	DRÁHY INDUKUJÍCÍ KVETENÍ U PŠENICE A JEČMENE .....	23
11.1	PHOTOPERIODICKÁ DRÁHA .....	23
11.2	VERNALIZAČNÍ DRÁHA .....	25
11.3	GENY RANOSTI <i>PER SE</i> .....	28
12	RÝŽE SETÁ .....	30
13	ZÁVĚR .....	32
14	POUŽITÁ LITERATURA .....	33
15	POUŽITÉ ZKRATKY .....	42

## 1 ÚVOD

Existence každého organismu je závislá na reprodukci neboť reprodukce zachovává pokračování druhu. Zvláště u rostlin je proto správné načasování doby kvetení velmi důležité. Doba kvetení je přechodné období mezi fází vegetativní (juvenilní) a generativní (Procházka, 1998). Juvenilní fáze představuje klidové období rostliny, kdy se nevytváří květy, protože zárodečný meristém není kompetentní k odpovědi na sezónní vnější indukční signály a udržuje se ve vegetativním stavu (Samach, 2012). U mnoha rostlin, zejména stromů, je juvenilita velkou překážkou při šlechtění a sklizení úrody (Samach, 2012). Aby rostlina věděla, kdy je ideální doba vykvést, musí vyhodnotit řadu vnějších (externích) a vnitřních (interních) signálů. Jak každý z nich ovlivňuje kvetení, závisí na životní strategii rostliny a na podmínkách konkrétní lokality (Bernier a kol., 2005). Tyto signály se dají rozdělit na primární (délka dne, chladové působení) a na sekundární (okolní teplota, kvalita světla). Vnitřní signály zahrnují stáří rostliny. Stresy abiotické a biotické způsobují zpomalení nebo zrychlení kvetení. K urychlení kvetení může také napomáhat spektrální složení světla, případně další signály z prostředí, jako je dostatek vody a výživy v půdě. Mezi vnější signály patří chladové působení nízkých teplot v oblastech mírného pásma, které se nazývá vernalizace. Rostlina vnímá vernalizaci především listy a apikálním meristémem. Vernalizace je dlouhodobé působení nízkých teplot 0-10°C. Rostliny, které prošly vernalizací jsou mnohem citlivější na délku fotoperiody než nevernalizované. Dalším externím signálem je délka dne (fotoperioda). Délka dne rozděluje rostliny na dlouhodenní, krátkodenní a neutrální. Dlouhodenní rostliny kvetou při fotoperiodě delší než je jejich kritická délka dne. Dělí se na absolutně dlouhodenní a fakultativně dlouhodenní rostliny. Absolutně dlouhodenní rostliny kvetou poté, co překročí kritickou délku dne, jinak nevykvetou. Fakultativně dlouhodenní rostliny kvetou i za krátkého dne, ale se zpožděním. Krátkodenní rostliny kvetou při fotoperiodě kratší, než je jejich kritická délka dne a dělí se na absolutně krátkodenní a fakultativně krátkodenní rostliny. Absolutně krátkodenní rostliny mají danou kritickou délku dne, nad kterou už nekvětou. Fakultativně krátkodenní rostliny kvetou i za dlouhého dne, ale se zpožděním. Neutrální rostliny jsou nezávislé na délce dne a přechod do kvetení je řízený autonomně. Dalšími vnitřními signály ovlivňující indukci kvetení jsou hladina hormonů hlavně giberelinů a přítomnost malých RNA (Samach, 2012).



## 2 CÍLE PRÁCE

Bude vypracována literární rešerše zaměřená na geny indukující kvetení. V první části práce bude vypracován obecný přehled principů rozmnožování nižších i vyšších rostlin. Ve druhé části budou popsány nejdůležitější dráhy indukce kvetení u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*, dále budou popsány nejdůležitější vnější a vnitřní podmínky, které kvetení ovlivňují. Další část práce rozebere současný stav poznání indukce kvetení u významných plodin jako je pšenice (*Triticum aestivum*), ječmen (*Hordeum vulgare*) a rýže (*Oryza sativa*). Budou popsány především geny fotoperiodické a vernalizační dráhy, dále pak geny ranosti *per se*.

### **3 REPRODUKCE ROSTLIN**

Reprodukce je jednou ze základních vlastností organismů. Význam spočívá hlavně v zachování druhu a v jeho rozšiřování na určitém území. Je také důležitým hybatelem evoluce. Těsně s ní souvisí variabilita, mutace a předávání genetické informace. Stejně jako u živočichů existuje u rostlin pohlavní a nepohlavní rozmnožování. Zvláštním typem nepohlavního rozmnožování je vegetativní rozmnožování. (Novák a Skalický, 2009; Hendrych, 1977).

### **4 VEGETATIVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ**

Při vegetativním množení vzniká jedinec ze somatických buněk mateřského organismu. Nedochází k meióze, a proto má nový jedinec shodnou genetickou výbavu. Vegetativní množení může probíhat v podobě dělení, kdy se mateřská buňka dělí na dvě nebo více částí, ze kterých vzniknou noví jedinci, a původní buňka zaniká. Dalším příkladem je regenerace, což je schopnost nahrazovat poškozené části těla. U ovocných stromů se často používá očkování nebo roubování. Vegetativní množení má velký význam v zemědělství a v zahradnické praxi při množení rostlin.

### **5 POHLAVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ**

Při pohlavním rozmnožování dochází ke splynutí dvou haploidních pohlavních buněk a to samčí a samičí za vzniku diploidní zygoty. Pohlavním procesem se rozumí splývání neboli asimilace dvou gamet. Zygota má diploidní počet chromozómů a je první buňkou sporofytu. Pohlavní rozmnožování je charakteristické střídáním jaderných fází a to diploidní fáze s haploidní fází. Nejprve musí dojít k oplození a zdvojení počtu chromozómů v jádře zygoty, a pak k meióze, což vede k redukci počtu chromozómů na polovinu. Dalším důležitým jevem doprovázejícím pohlavní rozmnožování je heterogeneze neboli rodozměna. Nejčastěji se střídá pohlavní generace gametofyt s nepohlavní generací sporofytem.

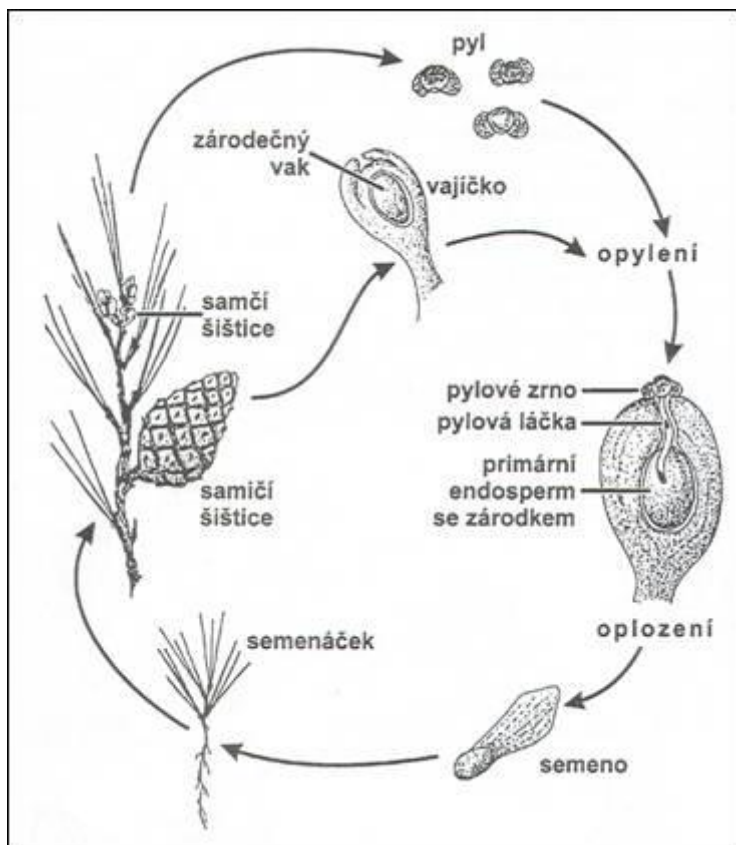
## 6 ROZMNOŽOVÁNÍ SEMENNÝCH ROSTLIN

Semenné rostliny se rozdělují na nahosemenné a krytosemenné. Obě skupiny se rozmnožují pomocí charakteristických útvarů nazývaných semena. Semena jsou mnohobuněčné útvary, které se vytváří na sporofytu a dávají vznik novým jedincům. Střídání generací je silně potlačeno. Gametofyt je zcela závislý na sporofytu a není schopen samostatné existence. Díky tomu už není oplození závislé na vodním prostředí a vyvinulo se opylení. Na sporofytu se vytváří megasporangia s megasporou a mikrosporangia nesoucí mikrosporu. Vajíčko představuje megasporangium, ve kterém probíhá oplození a vzniká zárodek nového sporofytu. Z vajíčka se vyvíjí semeno a vaječné obaly se přemění na osemení (Novák a Skalický, 2009).

### 6.1 NAHOSEMENNÉ ROSTLINY

Nahosemenné rostliny se vyznačují značnou převahou sporofytu nad gametofytem. Dalším znakem je nedokonalá ochrana vajíček. Ze sporofytu vyrůstají samčí a samičí šištice, které nazýváme strobily. Samičí šištice obsahují semenné šupiny na kterých se tvoří vajíčka. Vajíčko se vyvíjí z dělivého pletiva, které dává vznik obalu vajíčka. Na vrcholu vajíčka, kde obal není spojený, se nachází klovy otvor. Samčí šištice jsou tvořeny větvením s tyčinkami. Tyčinku představuje mikrosporofyl až s několika mikrosporangii. Samičí gametofyt je představován megasporou. Meiózou této buňky vznikají čtyři haploidní buňky, z nichž doroste pouze jedna, která dá vznik zárodečnému vaku. Gametofyt se vyvíjí dělením megaspory a je představován mnohobuněčným endospermem. Na jeho mikropilárním konci se tvoří archeogonia a uvnitř každého se nachází vaječná buňka oosféra. Takto je gametofyt připraven k oplození. V samčím gametofytu obsahuje mikrosporangium pylotvorné pletivo, z něhož se vytváří výstelková vrstva tapetum a sporogenní tkáň. Meiózou sporogenní tkáň vznikají tetrády pylových zrn a tapetum slouží k jejich výživě. Vnitřek zrna zaujímá buňka, která dělením dává vznik buňce vegetativní (láčkové) a buňce generativní. Generativní se dělí za vzniku dvou buněk, z nichž jedna je buňka spermatogenní, která dá vznik dvěma spermatickým buňkám. Takto je pylové zrno připraveno k uvolnění z prašných pouzder.

Obrázek 1: Životní cyklus nahosemenných rostlin (Kvaček a kol., 2000)

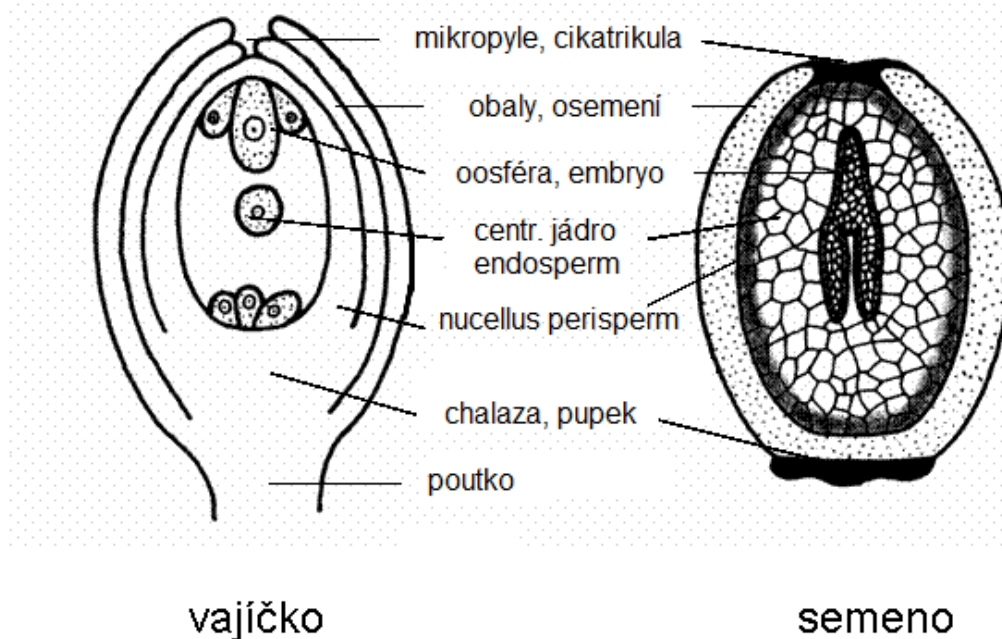


Na obrázku 1 je znázorněn životní cyklus nahosemenných rostlin. Po opylení vegetativní buňka roste v pylovou láčku, která proniká klovným otvorem do vaječné buňky. Jedna ze spermatických buněk splývá s jádrem vaječné buňky a vzniká zygota. Ostatní buňky pylové láčky zanikají. Ze zygoty se dalším dělením tvoří embryo a celé vajíčko se modifikuje na semeno. Semeno je tvořeno diploidním osemením, haploidním endospermem a diploidním zárodkem. U zralých semen je patrný hypokotyl s radikulou.

## 6.2 KRYTOSEMENNÉ ROSTLINY

Krytosemenné rostliny jsou vývojově nejmladší skupinou vyšších rostlin. Reprodukční orgány byly nejprve uspořádány do oboupohlavních souborů. Postupným vývojem vznikaly samčí a samičí jednotky samostatně. Tyto samčí pohlavní orgány tyčinky a samičí pohlavní orgány vajíčka jsou součástí květu. Morfologicky je květ soubor přeměněných listů, jenom květní lůžko má původ stonkový. Soubor všech tyčinek květu se nazývá andreceum. Tyčinka se skládá z nitky, konektivu a prašníku. Nejdůležitější je prašník, neboť v jeho prašných pouzdrech se vyvíjí pylová zrna (pyl). Další částí květu je samičí pohlavní orgán pestík, který vznikl srůstem plodolistů. Má tři části. Semeník, čnělka a blizna. Po dozrání pylu a vajíčka dojde k opylení (přenosu pylu z prašníku na bliznu). Z oplozené vaječné buňky vzniká zygota a z centrálního jádra se vyvíjí endosperm. Z diploidní zygoty se dělením utváří zárodek. Po oplození vajíčka vzniká mnohobuněčný útvar semeno, jak je patrné na Obr. 2. Semeno dává vznik nové generaci rostlin. Některá semena klíčí ihned po dozrání, jiná mohou vyklíčit až za několik let. Pro tato semena je charakteristická doba dormance.

Obrázek 2 : Přeměna vajíčka v semeno (upraveno z web2.mendelu.cz)



Obrázek 2 popisuje vajíčko a jeho části, které se po oplození přemění v semeno.

## 7 MODELOVÁ ROSTLINA ARABIDOPSIS THALIANA L.

V minulosti se vědci snažili najít ideální rostlinu pro studium mechanismů indukce kvetení u vyšších rostlin. Tyto procesy měly být studovány jak na fyziologické tak na genetické úrovni. Modelovým organismem se proto stal Huseníček Thalův (*Arabidopsis thaliana* L.) díky mnoha výhodným vlastnostem, kterými jsou poměrně malý, nyní již osekvenovaný, genom, krátká vegetační doba a velký počet semen. U *Arabidopsis* představuje vegetativní fázi listová přizemní růžice bez stonku. Při přechodu do reprodukční fáze přestane apikální meristém tvořit listová primordia a začne vytvářet květní části. Změny zahrnují úbytek květního represoru *COPS* (controller of phase switching), jehož nízké hladiny vedou k aktivaci iniciačního procesu kvetení *FLIP* (floral initiation process) (Schultz a Haughn, 1993; Koornneef a kol., 1998). U *Arabidopsis thaliana* L. genetické variace představují velký počet mutantů s časným nebo pozdním fenotypem kvetení (Koornneef a kol., 1998). *Arabidopsis* je fakultativně dlouhodobá rostlina, a proto je kvetení indukováno dlouhým dnem. Pro studium indukce kvetení se používají především rostliny s pozdními genotypy, které mají prodlouženou vegetativní fázi a málo reagují na vernalizaci, přičemž pokud jsou vystaveny nízkým teplotám, dochází u nich ke zkrácení vegetativní doby. (Koornneef a kol., 1998).

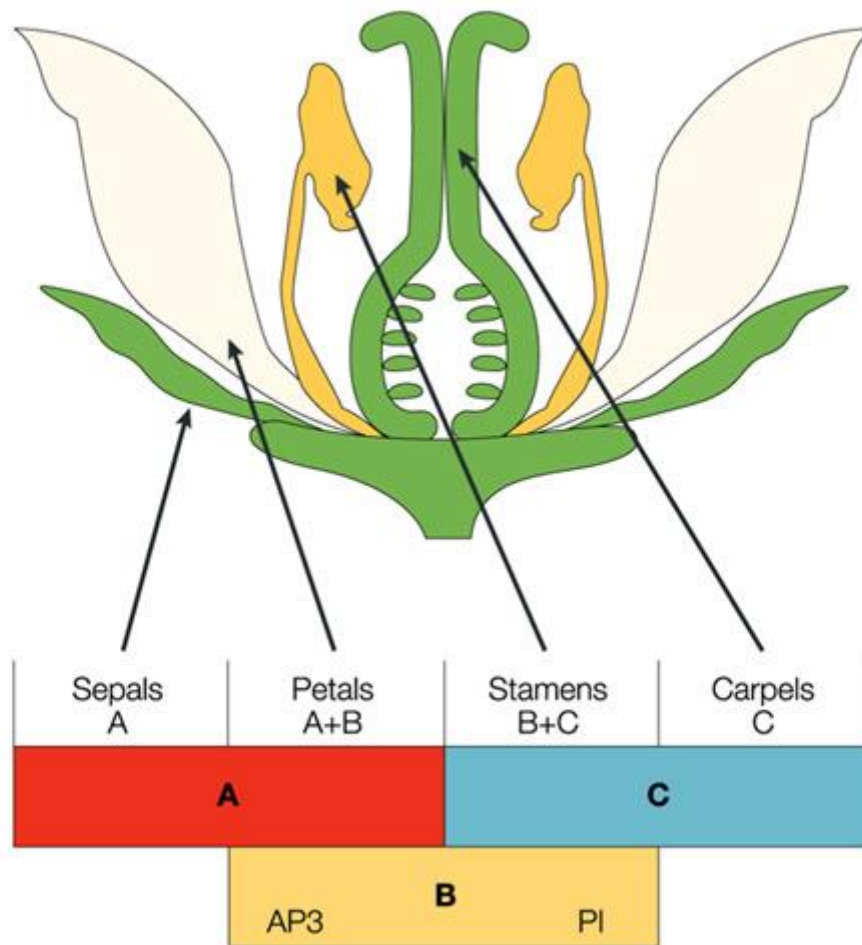
### 7.1 ZÁKLADNÍ GENY KVETENÍ

Geny, které řídí vývoj květních orgánů, či se podílí na procesu kvetení, můžeme zařadit do čtyř skupin. První skupina zahrnuje geny, které zodpovídají za indukci kvetení (floral induction genes). Do druhé skupiny obvykle řadíme geny určující identitu květních meristémů (floral meristem identity genes). Třetí skupinou jsou homeotické geny a čtvrtá skupina obsahuje katastrální geny. (Jack a kol., 1993). Geny zodpovědné za indukci kvetení iniciují přechod vegetativního vývoje na reproduktivní v závislosti na vnějších a vnitřních faktorech (Jack a kol., 1993). Rostlina tímto přepnutím nastartuje svoje stárnutí a smrt. V tomto procesu je zahrnuta celá řada genů působících v několika drahách indukujících kvetení. Mutace v těchto genech způsobuje zpoždění ve kvetení. Geny identity květních meristémů jsou přímo zodpovědné za diferenciaci květních orgánů a stvolu. Mutace v těchto genech způsobuje změny v počtu nebo ve struktuře květních primordií (Jack, 2004). Patří sem geny *LEAFY* (*LFY*) (Coen a kol., 1990), *TERMINAL FLOWER 1* (*TFL1*), *APETALA1* (*API*), *APETALA2*

(*AP2*) (Jofuku a kol., 1994), *CAULIFLOWER (CAL)* (Bowman a kol., 1993), *FRUITFUL (FUL)* (Gu a kol., 1998) a *UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)*. V původním nemutovaném genotypu je exprese genu *LFY* nejčasnějším znakem toho, že se skupina buněk, odvozených z apikálního meristému, mění v květ.

Skupina homeotických genů byla nalezena i u jiných rostlinných druhů, ale na rozdíl od klasických homeotických genů nekódují proteiny s homeodoménou. Jsou to zároveň konzervované transkripční faktory s DNA-binding doménou zvanou *MADS-box*. Byly nalezeny díky mutacím, které vedly ke změně počtu nebo polohy květních orgánů. Pro lepší porozumění interakcím genů a květních orgánů byl vytvořen tzv. ABC model identity květních orgánů (Jack, 2004). Ten nám říká, že květní orgány jsou uspořádané ve čtyřech koncentrických kruzích a každý orgán je tvořen specifickou kombinací čtyř homeotických genů. Od krajního po vnitřní jsou kruhy tvořené kališními lístky, okvětními lístky, tyčinkami a pestíkem. Každý orgán se vytváří v určité oblasti. Geny, které řídí vývoj těchto základních orgánů, jsou řazeny do třech skupin A, B a C. Geny ne vždy přímo náleží do jedné třídy. Třída A obsahuje geny pro tvorbu kališních a okvětních lístků. Tyto geny slouží zároveň jako represory aktivity genů C třídy v kruzích 1 a 2, jak je patrné z Obr. 3 (Jack, 2004). U *Arabidopsis* do této třídy patří geny *APETALA1* a *APETALA2*. Třída B tvoří geny *APETALA3* a *PISTILLATA*, které jsou potřebné pro vývoj květních lístků v kruhu 1 a tyčinek v kruhu 2. Gen *AGAMOUS* z C třídy je nezbytný pro tvorbu tyčinek v kruhu 3 a pestíku v kruhu 4. Druhou hlavní funkcí třídy C je potlačení aktivity genů A třídy v kruhu 3 a 4. Všechny geny jsou exprimované v předem daných květních orgánech, pouze RNA genu *APETALA2* je zastoupena ve všech čtyřech květních kruzích (Jack, 2004). ABC model byl později doplněn o čtvrtou skupinu genů tzv. *SEPALLATA GENE (SEP)*. Tyto geny rovněž hrají důležitou úlohu ve vývoji okvětních lístků, tyčinek a pestíku.

Obr 3: Uspořádání květních orgánů podle ABC modelu ( upraveno z www.nature.com)



Na obrázku tři je popsán model ABC a jak je vývoj květních orgánů řízený expresí tří skupin genů. V prvním kruhu geny A skupiny jsou exprimovány samostatně a produkují kališní lístky (sepals). Ve druhém kruhu ko-exprese genů B skupiny a A skupiny vytváří okvětní lístky (petals). Ve třetím kruhu ko-exprese genů B skupiny a C skupiny produkuje tyčinky (stamens), zatím co samotná exprese genů C skupiny vytváří pestík (carpels).



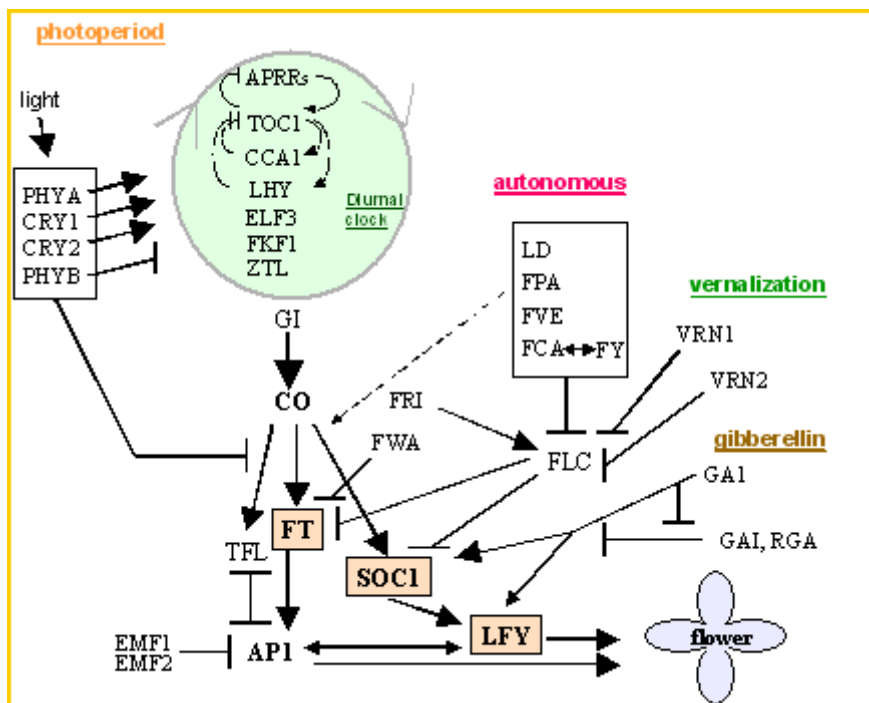
## 8 INTEGRÁTOROVÉ GENY

Další důležitou skupinou jsou tzv. integrátorové geny, které slučují signály z různých regulačních drah (Parcy a kol., 2005). Integrátory pak přímo působí na geny identity meristému jako je *LEAFY* nebo *APETALA*, protože ty zodpovídají za přeměnu vegetativního meristému na reprodukční. Jedním z těchto genů je *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Dlouho se hledalo, jaký konkrétní stimul působí na apikální meristém a dává mu podnět ke kvetení. Teprve až molekulárně genetické studie mutací ovlivňujících kvetení u *Arabidopsis thaliana* objasnily záhadu onoho signálu. Byl nalezený právě gen *FT*, který byl aktivovaný pouze za podmínek indukujících kvetení (Štorchová, 2008). Rozhodující důkaz přinesly experimenty *FT* genu s dexametazonem, kdy transgenní huseníček vykvetl i za krátkého dne. Proto byl protein *FT* genu ztotožněn s dlouho hledaným „florigenem” (Štorchová, 2008). *FT* kóduje protein vázající fosfatidyletanolamin a byl objevený pomocí pozdně kvetoucího *T-DNA* mutantu. Za dlouhého dne je exprese *FT* pozitivně regulována genem *CONSTANS* a tím dojde k předčasnému vykvetení. Gen *FT* slučuje signály z fotoperiodické a autonomní dráhy. Geny fotoperiodické dráhy podporují expresi *FT*, zatím co geny autonomní dráhy expresi *FT* potlačují. Další integrátorový gen je *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. *FLC* gen slučuje signály z autonomní a vernalizační dráhy a v obou případech geny drah potlačují expresi genu *FLC* (Jack, 2004). Jeho exprese je pozitivně řízená genem *FRIGIDA*. Gen *FLC* působí jako květní represor. Jeho exprese snižuje hladinu genu *FT* (Parcy a kol., 2005). Gen *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC1)* slučuje signály z autonomní, vernalizační a fotoperiodické dráhy. *SOC1*, kódující *MADS*-box transkripční faktor, je většinou exprimovaný v listech a apikálním meristému. Mutace v *soc1* genu způsobuje pozdní kvetení za dlouhého i krátkého dne (Jack, 2004). Na sekvenci *MADS* v promotoru *SOC1* se může vázat protein *FLC*, a tím dochází k potlačení exprese *SOC1* (Jack, 2004). *SOC1* má vazebné místo i pro *CO* gen, ale k aktivaci je potřeba ještě dalšího kofaktoru (Jack, 2004).

## 9 DRÁHY INDUKCE KVETENÍ

Geny, které indukují kvetení, rozdělujeme obvykle do pěti skupin. Patří sem fotoperiodická, vernalizační, metylační, autonomní a na gibberelinech závislá dráha. Do indukce doby kvetení je zapojena i malá skupinka genů, kterým se říká integrátoři signálů doby kvetení, a tyto geny začleňují signály z různých drah podílejících se na kvetení a výsledný signál dopravují až ke genům identity meristému (*FMI* geny). Schématické propojení drah ovlivňující kvetení u *Arabidopsis* je znázorněno na Obrázku 4.

Obr 4: Schéma některých genů a regulačních drah ovlivňujících kvetení u *Arabidopsis thaliana* L ([http://www.regional.org.au/au/asa/2004/symposia/3/2/158\\_welchsm.htm](http://www.regional.org.au/au/asa/2004/symposia/3/2/158_welchsm.htm))



Na obrázku 4 jsou popsány některé významné dráhy, které se podílí na indukci kvetení. Tyto dráhy dohromady tvoří v síť regulačních drah a slučují signály z vnějšího a vnitřního prostředí. Jednou z nejdůležitějších drah je fotoperiodická dráha, která tvořená kaskádou genů GIGANTEA-CONSTANS-FLOREING LOCUS T a je ovlivňovaná geny cirkadiálních hodin.

## 9.1 VNITŘNÍ OSCILÁTOR ROSTLIN

Po objevení délky dne co by důležitého činitele v indukci kvetení se vyskytla otázka, jak rostlina pozná délku dne. Zjistilo se, že rostliny k vnímání světa potřebují určité vnitřní hodiny, které jim říkají, kdy je ráno a kdy noc. Jejich principem jsou transkripčně translační smyčky založené na zpětné vazbě. (Štorchová, 2008). V tomto procesu je zapojeno několik významných genů. Jsou to zejména ranní geny *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)* a *LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)* (Štorchová, 2008). Tyto geny jsou ráno aktivované a je syntetizována příslušná mRNA s proteiny. Zároveň působí jako inhibitory transkripce večerního genu *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)*, který je ale nezbytný pro transkripci obou genů (Štorchová, 2008). Jeho nedostatek způsobí pokles hladin proteinů *CCA1* a *LHY* a tím i aktivaci vlastní exprese, ke které přispívá kaskáda pseudoresponse regulačních genů - *PRR* genů. Důležitou roli zde hraje gen *CONSTANS*, který je přímo řízen vnitřními hodinami.

## 9.2 FOTOPERIODICKÁ DRÁHA

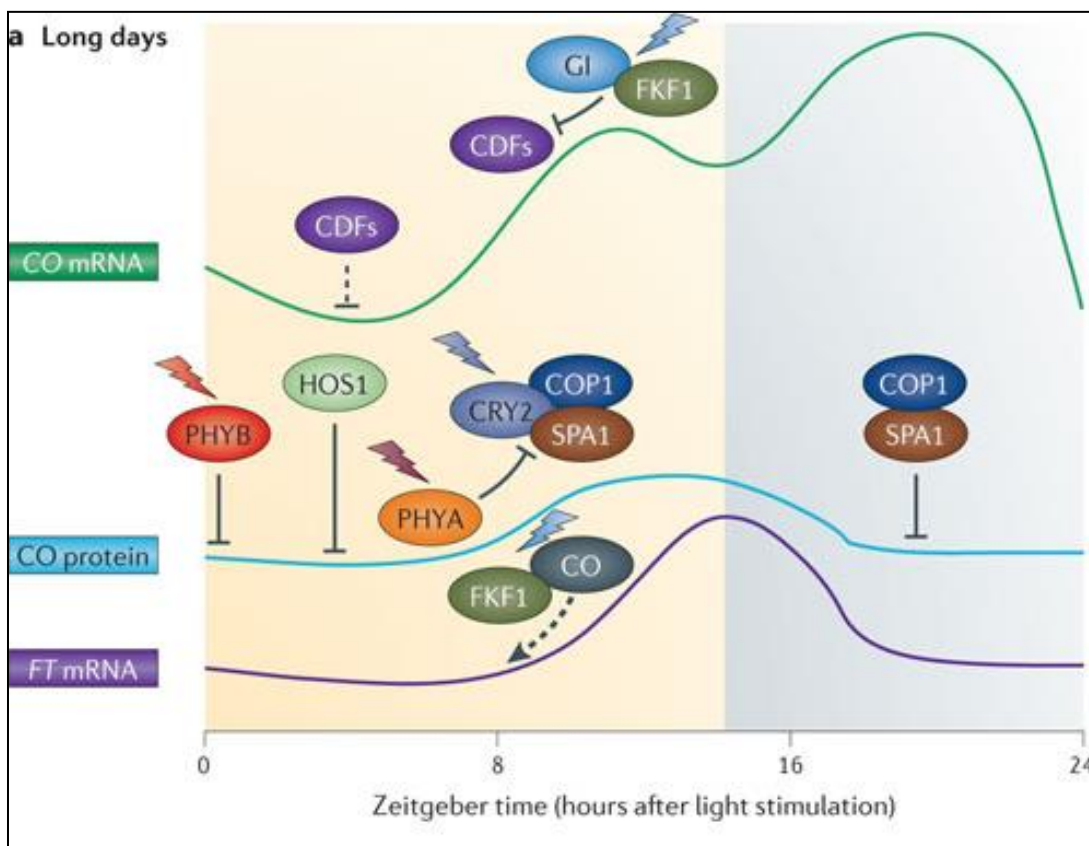
Některé rostliny kvetou na jaře nebo na podzim, kdy je krátký den a dlouhá noc. Jiné rostliny kvetou naopak v létě. Tyto rostliny označujeme jako krátkodenní, respektive dlouhodenní. Krátkodenní rostliny kvetou pouze tehdy, pokud délka dne nepřekročí jejich kritickou délku dne. Naproti tomu dlouhodenní rostliny kvetou až když délka dne překročí jejich kritickou délku. Existuje i třetí skupina rostlin které jsou neutrální a kvetení u nich není vyvolané fotoperiodou. Fotoperiodismus je schopnost rostliny vnímat délku dne a noci. Orgánem pro příjem fotoperiodického signálu je list. Rostliny přijímají světelný signál skupinou fotoreceptorů. K zachycení fotoperiodického signálu slouží fytochromy v cytoplazmě, které absorbují červené světlo. Zapojují se do indukce kvetení, klíčení a vnímání fotoperiody. Červené světlo o vlnové délce 660 nm převádí fytochrom na aktivní formu ve dne, zatímco vlnová délka 730 nm inaktivuje fytochrom, což probíhá v noci. Po přijetí signálu vznikne v listech fotoperiodický stimul, který je transportován k meristému. Fytochromy jsou kódovány pěti geny: *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD*, *PHYE*. *PHYA* a *PHYB* regulují čas kvetení (Linn a kol., 2000). Mutant *phyB* kvete brzy, zatímco mutant *phyA* kvete pozdě. Mutace v obou genech (mutant *phyAphyB*) způsobuje kvetení dříve než u mutantu *phyB*. Velká část fytochromů kóduje proteiny, které se podílejí na vnímání světla

(*PHYTOCHROM A*, *PHYTOCHROM B*, *CRYPTOCHROM 2*, aj.) nebo jsou součástí cirkadiálních endogenních rytmů (Linn a kol., 2000). Dále jsou zastoupeny dva geny *CRYPTOCHROM 1 (CRY1)* a *CRYPTOCHROM 2 (CRY2)*, které vnímají modré světlo a UV-A část (400–500nm). Mutace v obou těchto genech vedou k pozdnímu kvetení (Linn a kol., 2000). Molekulární metody vychází ze studia mutantů, kteří se projevují pozdějším nebo ranějším typem kvetení. U *Arabidopsis* tak byly získány třídy mutantů, jejichž geny se účastní kvetení. Jedna třída mutantů kvetla později než kontrolní rostliny za dlouhých dnů, ale ve stejném čase jako kontrolní rostliny za krátkých dnů.

Ve fotoperiodické dráze mají hlavní roli geny *GIGANTEA (GI)*, *FLAVIN KELCH F BOX 1 (FKF1)*, *CONSTANS(CO)* a *FLOWERING LOCUS T (FT)* (Andrés a Coupland, 2012). Tyto geny jsou exprimované v cévním pletivu listů. Aktivace fotoperiodické dráhy vede k transkripční aktivaci genu *FT*, který se objevuje pouze za podmínek dlouhého dne. Tato aktivace vyžaduje gen *CO*, který navozuje expresi květních genů a mutace v tomto genu způsobuje nezávislost kvetení na délce dne. *CO* kóduje Zn-finger transkripční regulátor spojený *B-boxy*, *CO*, *CO-LIKE* a *TOC1* doménou (*CCT-doména*). *CO* aktivuje transkripci *FT* přímou interakcí s *FT*-promotorem. Obrázek 5 znázorňuje, jak je transkripce a translace genu *CONSTANS* regulována světlem a cirkadiálními hodinami. Světelná aktivace *CO* je indukována interakcí mezi rostlinným specifickým proteinem *GI* a ubiquitin ligázou *FKF1*: dva proteiny, které jsou součástí cirkadiálních hodin. *FKF1* je schopná vnímat modré světlo a za dlouhého dne tato interakce mezi *FKF1* a *GI* potlačuje expresi *CDF* faktorů (*CYCLING DOF FAKTORS*). Ty by jinak za krátkého dne degradovaly vzniklou *CO*mRNA (Andrés a Coupland, 2012). Post-translační regulace *CONSTANS* je důležitá při reakci na dlouhý den. Po translaci *CO*-mRNA je vzniklý protein stabilizovaný komplexem *COPI/ SPA1* s modrým světlem. Kdyby tento komplex nebyl stabilizovaný, došlo by k ubiquitinaci proteinu a k degradaci 26S proteasomem (Andrés a Coupland, 2012). Tato stabilizace *CO* na konci dlouhého dne zahrnuje fotoreceptory *PHYTOCHROM A (PHYA)*, receptor pro dlouhovlnné červené světlo a *CRYPTOCHROM 2 (CRY2)*, receptor pro modré světlo. Přímé interakce mezi *CRY2* a *SPA1* nebo *COPI* redukuje katalytickou aktivitu *COPI-SPA1* na světle. V odpovědi na modré světlo *FKF1* váže *CO*, a tím zvyšuje jeho stabilitu. Ráno přispívá k nestabilitě *CO* vysoká exprese genu *HOS1 (HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE1)*. Tato systémová signalizace z listů do vrcholového apikálního meristému zahrnuje pohyb *FT* proteinu. *FT* protein je částí florigenového signálu a patří do *CETSs* proteinové rodiny, která se skládá z *CENTRORADIALIS (CEN)*, *TERMINAL FLOWER1 (TFL1)* a *FT*

(Andrés a Coupland, 2012). Protein genu *CO* působí na transkripci genu *FT*, jehož produkt indukuje přeměnu apikálního meristému na květní primordia. Mimo fotoperiodickou dráhu se uplatňuje gen *FLC*, který zpožďuje kvetení potlačením produktu *FT* v listech a *SOC1* v meristémeh, kde zabraňuje up-regulaci *FD* transkripčního faktoru, který je potřebný ke tvorbě komplexu s *FT*. Po přenosu do apikálního meristému *FT* interaguje s *FD*. *FD* kóduje bZIP transkripční faktor, který interaguje s *FT* a společně aktivují expresi *SPL* genů (squamosa protein binding like). *SPL* geny kódují transkripční faktory které up-regulují gen *SOC1*-to slouží jako prvotní značka přechodu do kvetení (Abe a kol., 2005). *SOC1* se přímo váže s MADs-box transkripčním faktorem *AGL24* (*AGAMOUS-LIKE24*) a společně regulují expresi genu *LEAFY*, který iniciuje přechod apikálního meristému na reproduktivní (Parenicova a kol., 2003; Liu a kol., 2008; Lee a kol., 2008).

Obr 5: Transkripční a post-translační regulace genu *CONSTANS* za dlouhého dne (převzato z Andrés a Coupland, 2012)



Obrázek 5 popisuje vrchol exprese *CO* mRNA, vyskytující se mezi 12-16 hodinami po rozbřesku, který je nezbytný pro dlouhodobě závislou podporu kvetení a je regulován *GI* (Andrés a Coupland, 2012). Za dlouhého dne 10-14 hodin po rozbřesku *GI* interaguje

s *FLAVIN KELCH F BOXEM 1* ubiquitin ligázou (*FKF1*). Tato interakce podporuje degradaci *CDF* faktorů, které potlačují transkripci *CO*. *CO*-protein, exprimovaný na konci dlouhého dne, je stabilizovaný díky vytvoření komplexu *COPI-SPA1* ubiquitin ligázy se světlem. Tato inhibice se vytvořila z důvodu navázání aktivovaného *CRY2* na komplex *COPI-SPA1*. *PHYA* také inhibuje tento komplex, ale mechanismus je zatím neznámý. *FKF1* také stabilizuje *CO*-protein. Po ukončení dne přestanou být fotoreceptory aktivní, takže komplex *COPI-SPA1* není blokován a zahajuje degradaci *CO*- proteinu. Pokud se *CO*- protein vyskytuje i brzo ráno degraduje ho *COPI* dráha, která je aktivována *PHYB*. Tato regulace transkripční a post-translační regulace vede k aktivaci transkripce genu *FT* (Andrés a Coupland, 2012).

### 9.3 VERNALIZAČNÍ DRÁHA

V zeměpisných šířkách mírného pásu je pro přechod do reprodukční fáze rizikové nepříznivé chladné období. Aby došlo k přizpůsobení se těmto podmínkám, musela si rostlina vytvořit adaptační mechanismy, které zabraňují vykvést na podzim a indukují tvorbu květů až na jaře. Vernalizační požadavek může mít charakter fakultativní nebo obligatorní. V prvním případě nízké teploty nástup do reproduktivní fáze pouze urychlují, zatímco u obligatorního požadavku jsou pro kvetení nezbytné (Procházka, 1998). *Arabidopsis thaliana* L. se dělí na rostliny letní a zimní. Letní rostliny dokončí svůj životní cyklus velmi rychle během jara a léta, protože nevyžadují vernalizaci k indukci kvetení. Zimní rostliny obvykle žijí déle. Musí nejprve projít v zimě vernalizací, aby mohly vykvést následující jaro.

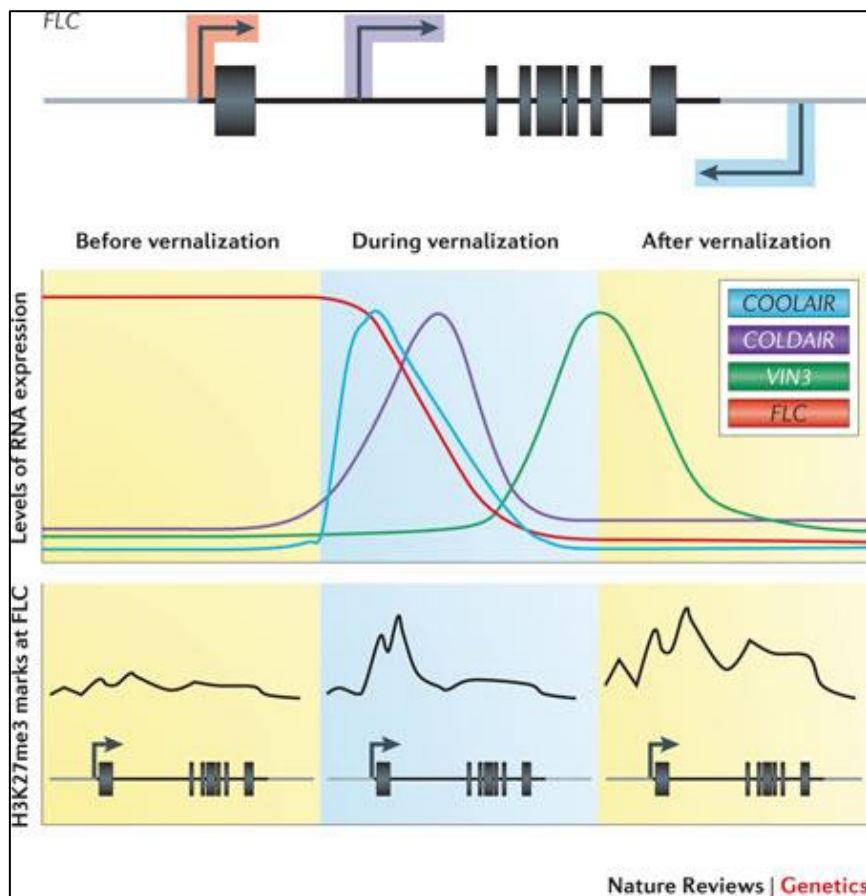
Vernalizace (česky jarovizace) je proces, při kterém je rostlina dlouhodobě vystavena nízkým teplotám 0 - 10°C. Nízké teploty mohou následně iniciovat tvorbu květů nebo zvýšit citlivost rostlin k fotoperiodickému signálu. Požadavek na vernalizaci je častý u přezimujících (ozimá pšenice, ječmen) a dvouletých rostlin. Vernalizace v mnohých případech neindukuje kvetení přímo, pouze ho umožňuje. Vernalizované rostliny jsou citlivé k dlouhodobému světlu a brzy kvetou, kdežto nevernalizované zůstávají ve vegetativní fázi. Vernalizace je vnímána v listech a ve vrcholových meristémech. Buňky meristému si pamatují, že prošly vernalizací a tato informace se následně předává na dceřiné buňky při mitóze. Vernalizace je typem epigenetické dědičnosti, protože při ní dochází k metylaci DNA. Obecně metylace patří mezi nejpozději objevené dráhy ovlivňující kvetení. Změny v genové expresi nejsou způsobené změnou primární struktury DNA, ale epigenetickými procesy, které jsou způsobené specifickými modifikacemi histonů. Tyto změny se přenášejí z generace na generaci. Bylo prokázáno, že u rostlin, které prošly chladem, došlo k úbytku metylcytosinu z jejich DNA a dále bylo zjištěno, že stejný účinek má na rostliny citlivé k vernalizaci demetylační látka azicytidin (Koornneef a kol., 1998). Také bylo prokázáno, že rostliny reagují jinak na vernalizaci a azicytidin. (Lízal a kol., 2001). Analýza genetických rozdílů ve vernalizaci mezi zimními a letními rostlinami ukázala, že zimní rostliny obsahují aktivní alely ve dvou lokusech, *FLOWERING LOCUS C (FLC)* a *FRIGIDA (FRI)*, zatímco letní rostliny nesou mutace v jednom genu nebo v obou genech. *FRI* kóduje spirálovitě stočený protein, který podporuje transkripci genu *FLC*, působením na jeho chromatinovou strukturu. *FLC* je *MADS*-box transkripční faktor, který se přímo váže na geny podporující kvetení *SOC1* a *FT* a

blokuje jejich transkripci (Johanson a kol., 2000). Vernalizace je vysoce komplexní děj, který operuje s mnoha dalšími regulátory z okolního prostředí. Vernalizace vyvolává demetylací DNA, která umožňuje expresi hydroxylázy kyseliny kamenové, což je důležitý enzym v syntéze giberelinů. Mutanti *Arabidopsis*, kteří měli exprimovaný metyltransferázový gen *MET1*, kvetli mnohem dříve než kontrolní rostliny. Tím byla potvrzena role metylace při udržování vývojových stavů meristému v závislosti na vernalizaci (Procházka, 1998). Vernalizace působí přes metylaci na histonovou strukturu v DNA. U *Arabidopsis* je hlavním cílem metylace represor kvetení *FLC*. Metylací histonu *H3* se stane gen *FLC* nečinný, protože se nachází v jeho těsné blízkosti. Metylace proběhne, pokud je rostlina vystavena vernalizaci. Časně kvetení bylo prokázáno u *Arabidopsis* s nefunkčním *FLC* genem. Naopak rostliny s funkčním *FLC* genem, které nebyly vystaveny vernalizaci kvetly mnohem později. Vernalizace potřebuje ještě další dva geny a to *VRN1* a *VRN2*. U rostlin s mutací v těchto genech byla aktivita genu *FLC* v chladu snížena, ale po návratu do tepla se vrátila do normálního stavu. Tyto genotypy nebylo možné jarovizovat a kvetly až dlouho po vyklíčení.

Proces, kterým dochází k postupnému umlčování genu *FLC* znázorňuje obrázek 6. Umlčování genu *FLC* během vernalizace koreluje s expresí nekódující RNA zvanou *COOLAIR* a *COLD AIR*. Před vernalizací dochází k trimetylaci lysinu 4 na histon 3 (*H3K4me3*), když je *FLC* ve velké míře exprimován (Milec a kol., 2014). Na začátku vernalizace dochází k vysoké expresi nesmyslné (antisense) RNA *COOLAIR*, která je kódovaná z promotoru na 3' konci. Po třech týdnech dosahuje vrcholu exprese druhá smyslná (sense) RNA *COLD AIR*, která je kódovaná prvním intronem, a je nezbytná pro umlčování *FLC* genu. K tomu, aby byla zajištěna stabilní represe *FLC* jsou důležité proteiny, způsobující změny struktury chromatinu modifikací histonu. Proteiny potřebné pro změny chromatinu jsou přímo spojené s *COLD AIR*. Jedním z těchto proteinů je *CURLY LEAF*, který je součástí Polycomb represivního komplexu 2 (*PRC2*), který je potřebný k zavedení lysinu 27 na histon *H3* trimetylaci (*H3K27me3*), což slouží jako značka pro potlačení exprese po vernalizaci. Pokles *COLD AIR* a *FLC* mRNA indukuje transkripci genu *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE3*). Ten kóduje protein zodpovědný za umlčování *FLC* a pravděpodobně reaguje s *PRC2*, který je odpovědný za inkorporaci *H3K27me3* (Sung a Amasino, 2004; Heo a Sung, 2011).



Obr. 6: Potlačení exprese genu *FLC* vernalizací (převzato z Andrés a Coupland, 2012)



Obrázek 6 znázorňuje aktivitu obou nekodujících RNA, které při své expresi potlačují gen *FLC*. Na začátku vernalizace dojde k expresi RNA *COOLAIR*. O několik týdnů později dosahuje vrcholu druhá RNA *COLD AIR* která nese značku pro potlačení exprese *FLC*. Pokles *FLC* vybudí transkripci genu *VIN3* který trvale umlčí *FLC*.

## 9.4 GIBERELINOVÁ DRÁHA

Gibereliny (GA) jsou rostlinné hormony, které jsou zapojeny do řízení kvetení u mnoha rostlin jak jednoletých (King a kol., 2006) tak i víceletých. Gibereliny mají různou aktivitu v různých růstových a vývojových procesech a mohou se tak účinkem u jednotlivých druhů rostlin lišit. Gibereliny se tvoří pravděpodobně ve všech rostlinných orgánech a nejvíce jich nacházíme v místech aktivního růstu. Prudká redukce endogenních giberelinů zpožďuje kvetení za dlouhého dne a zabraňuje kvetení při krátkém dni. Z toho vyplývá, že gibereliny jsou rostlinné hormony, které u *Arabidopsis thaliana* L. vyvolávají kvetení za krátkého dne. Mutanti, ve kterých je GA potlačena jako jsou *gal-3* jsou neschopné kvést za krátkého dne, protože *gal-3* nese delecii v genu pro kontrolu klíčového kroku v rané části biosyntézy giberelinů (Wilson a kol., 1992; Koorneef a Van der Veen, 1980). Pozitivně regulují gen *LFY* a *SOCI*, který je jinak za dlouhého dne stimulován genem *CO*. Bylo to prokázáno studiem mutací, které narušují biosyntézu giberelinů (Blázquez a kol., 1998). *SOCI* gen se jeví jako hlavní cíl giberelinů s ohledem na kvetení od doby, co je jimi exprese *SOCI* ovlivňována (Moon a kol., 2003). Vše naznačuje tomu, že vzestup exprese *SOCI* po aplikaci giberelinů trvá poměrně dlouho a vyžaduje dodatečný protein *AGL24* (Samach, 2012). Pokud *SOCI* chybí, gibereliny stejně silně působí na kvetení (Liu a kol., 2008) a doba kvetení rostlin, u kterých došlo k overexpresi *SOCI*, je zpožděná biosyntézou inhibitorů giberelinů (Blázquez a kol., 2002). Reakci rostlin na vernalizaci provází vždy zvýšený prodlužovací růst a v mnoha případech lze vernalizační požadavek eliminovat aplikací giberelinů. Z toho se dá předpokládat, že nízké teploty ovlivňují syntézu giberelinů. Například inhibitor metylace DNA 5-azacytidin aktivuje jeden z enzymů biosyntézy giberelinů a ruší požadavek na vernalizaci u *Arabidopsis thaliana* (Burn a kol., 1993). Přítomnost giberelinů indukuje kvetení u dlouhodobých rostlin, které vytváří přizemní růžici. U jiných dlouhodobých nebo krátkodobých rostlin tomu tak není. Gibereliny, které jsou vysoce účinné ve vyvolávání stonkového růstu, se málo podílí na kvetení. Silné florigenní účinky byly zjištěny u vysoce polárních giberelinů s větším počtem hydroxylových skupin (Evans a kol., 1993). Gibereliny *GAI* a *GA3* mají funkci prodlužovat růst, zatímco *GA32* a dimetyl *GA4* působí jako květní stimuly (Šetlík a kol., 2007).

## 9.5 PŮSOBENÍ MALÝCH RNA (*miRNA*)

Mikro RNA (*miRNA*) jsou podskupinou malých interferujících RNA (*siRNA*), nacházející se u různých organismů včetně rostlin. Geny *miRNA* zahrnují přepisované obrácené repetice, a proto tvoří RNA zvláštní smyčkovitě stočenou strukturu (Samach, 2012). Jejich tvar tvoří komplex *DICER LIKE-1* do dvouvláknové RNA struktury o 20-24 párech bází (Samach, 2012). V cytoplazmě následně dochází ke spojení s komplexem *RISC*. Vzniklý komplex má specifickou oblast *miRNA*, která slouží k rozpoznání mRNA s komplementární sekvencí. Komplex danou mRNA sestříhá a tím zahájí její degradaci nebo inhibuje translaci. U *Arabidopsis thaliana* je hlavním molekulárním „kráječem“ mRNA protein *ARGONAUTE1* (*AGO*) (Samach, 2012). Rostliny redukují chod určité *miRNA* rodiny mechanismy označovanými jako cílové mimikry (falešné maskování) (Franco-Zorrilla a kol., 2007). Místo normální *miRNA* začleňují inzerci 3 nukleotidy na místo, kde má dojít k sestříhu. Falešná *miRNA* je oddělena *RISC* komplexem, který způsobí pokles normální aktivity *miRNA* rodiny (Samach, 2012). Tyto mechanismy mohou být uměle zavedené do rostlin ke studiu toho, jak se rostliny chovají bez určité rodiny *miRNA* (Todesco a kol., 2010). Použitím falešného maskování byl pozorován vývojový fenotyp u 14 *miRNA* rodin ze 73 nalezených u *Arabidopsis* (Todesco a kol., 2010). Několik z nich se podílí na určení času potřebného k vykvetení u rostlin (Poethig, 2009).

U *Arabidopsis* *miR156* kóduje *SPL* transkripční faktory, které podporují kvetení (Wang a kol., 2009). Overexprese této *miRNA* způsobuje pozdní kvetení za dlouhých i krátkých dnů (Schwab a kol., 2006; Wang a kol., 2009). Cílové působení *miR156* způsobuje brzké kvetení za obou délek dne (Wang a kol., 2009). *miR156* působí také na *miR172* a její overexprese redukuje *miR172* přes *SPL9* a *SPL10*, které podporují transkripci *miR172* (Wu a kol., 2009). Overexprese *miR159* způsobuje pozdní kvetení za krátkých dnů u *Arabidopsis thaliana* (Achard a kol., 2004), ale u rostlin nedocházelo ke zpoždění kvetení za dlouhé fotoperiody. Cíle *miR159* jsou podskupiny *MYB* transkripčních faktorů, některé asociované s giberelinovou signální transdukcí (*GAMYB*) (Samach, 2012). *DELLA* transkripční faktor snižuje regulaci *miR159* (Achard a kol., 2004). Cílové mimikry *miR167* skupiny způsobují pozdní kvetení za dlouhých dnů (Todesco a kol., 2010). Působení *miR169* zapříčiňuje růst rostlin s malými listy (Todesco a kol., 2010). Poslední známou *miRNA* zapojenou v procesech kvetení je *miR172*, jejíž overexpresí dochází k brzkému kvetení (Chen, 2004; Jung a kol., 2007). Působením *miR172* dochází k pozdnímu kvetení za dlouhých dnů (Todesco a kol., 2010). Cílem jsou *APETALA-like* transkripční faktory (Mathieu a kol., 2009).

## 10 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA *TRITICUM AESTIVUM L.*

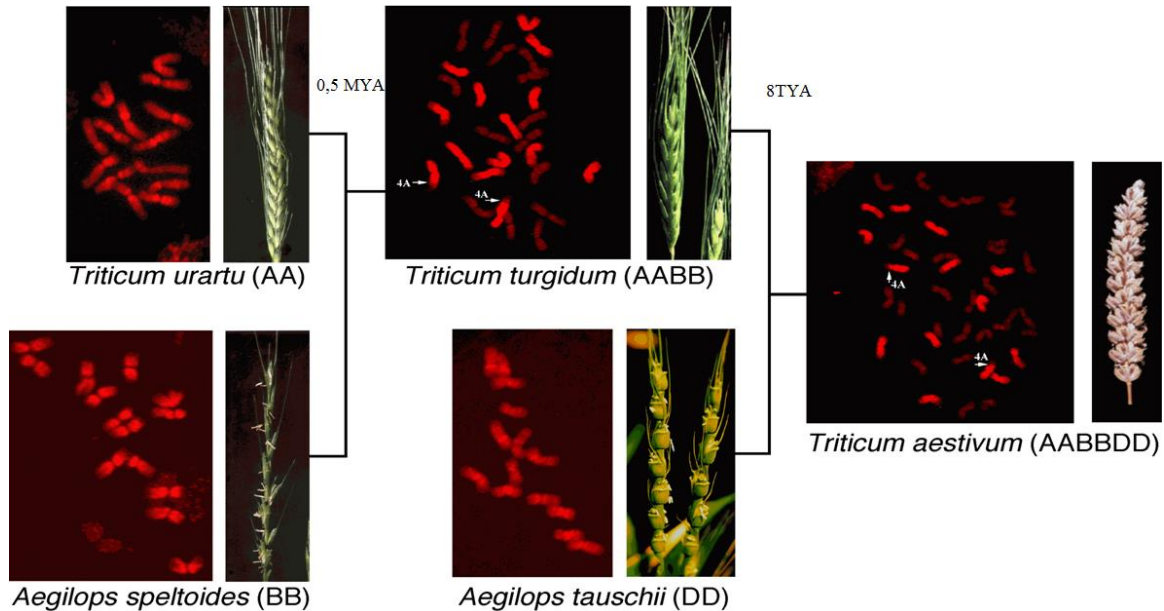
*Triticum aestivum L.* (pšenice setá) náleží do čeledi *Poaceae* (lipnicovité). Do této čeledi patří vytrvalé nebo jednoleté byliny se svazčitými kořeny a čárkovitými listy. Stonek je typu stébla s meristémy v kolénkách, většinou dutý. Listy mají pochvy s blanitým jazýčkem a ouškem na bázi čepele. Květy jsou jedno nebo oboupohlavné, většinou trojčetné, mají silně redukované obaly a skládají se do klásků. K opylení dochází větrem. Malé kvítky jsou chráněny pluchami a pluškami. Plodem je obilka, méně často tobolka.

Rod *Triticum* zahrnuje jak jednoleté tak i víceleté druhy s různou úrovní ploidie. Díky relativní genetické blízkosti mezi kulturními druhy pšenice a jejich divokými příbuznými bylo možné vzájemné křížení a vytváření žádaných nových genových kombinací (Pánková a Milec, 2011). Pšenice byla známá již několik tisíc let před naším letopočtem jako planá forma. První historický druh kulturní pšenice *Triticum monococcum L.* ( $2n = 14$ ) byl domestikován před deseti tisíci lety v oblasti úrodného púlměsíce Blízkého východu a jeho evoluce úzce souvisí s rozvojem zemědělství (Prášil, 2009). Mnohem významnější druhy tetraploidní pšenice *Triticum durum*  $2n = 28$  a hexaploidní pšenice *Triticum aestivum L.*  $2n = 42$  jsou pěstovány ve všech oblastech mírného pásma, což souvisí s jejich schopností přizpůsobit se ekologicky rozdílným podmínkám. Pšenice je pěstována od oblasti rovníku až po nejvzdálenější severní nebo jižní oblasti. Za to může vnitrodruhová variabilita, která umožňuje různým druhům vykvést za různých vnějších podmínek. Pšenice se obecně vyskytuje ve třech formách jako jarní, ozimá a přesívková. Ozimá se vysévá na podzim, kdy vyklíčí a vytvoří přizemní růžici listů, která zůstává ve vegetativní fázi. Po projití nízkými teplotami  $0-10^{\circ}\text{C}$  brzy na jaře vykvétá. Jařiny se vysévají na jaře a rychle přecházejí do kvetení. Přesívky jsou odrůdy, které nepotřebují k vykvetení vernalizaci. Přezimují díky silné citlivosti na krátký den. Ten na podzim zabrání jejich přechodu do kvetení. Mohou se vysévat na podzim i na jaře, ale dnes se pro nízké výnosy nevyužívají (Prášil, 2009).

Hexaploidní pšenice *Triticum aestivum* s genomem AABBDD je dobrým modelem pro studium polyploidie a zároveň pro studium evoluce genomu. Složení genomu charakterizují písmena A, B a D. Výzkumem a šlechtěním pšenice byly odhaleny geny, které ovlivňují některé důležité vlastnosti pšenice, jako je výnos nebo odolnost proti chorobám či škůdcům. V zemědělství závisí optimální výnos na načasování doby kvetení a vnějších podmínkách. Pšenice je plodina s rozsáhlým geografickým polem působnosti, což souvisí s její

schopností přizpůsobit načasování doby kvetení a tvorbu zrna různým vnějším faktorům. Toto načasování se u různých odrůd liší podle přítomnosti tří skupin genů – *Ppd*, *Vrn* a *Eps*.

Obr. 7: Vznik hexaploidní pšenice (upraveno Gill a kol., 2004).



Obrázek 7 nám ukazuje jak se vyvíjel genom pšenice seté postupným křížením jejích předků. Nejbližší příbuzný dnešnímu druhu pšenice byl *Aegilops speltoides* s genomem B. Před 0,5 miliony let došlo ke křížení *Aegilops speltoides* s *Triticum urartu* a vznikla tetraploidní pšenice *Triticum turgidum* s genomovým složením AABB. Ta už měla naznačený malý klásek. Před osmi tisíci lety se *Triticum turgidum* skřížila s trávou *Aegilops tauschii* s genomem D. Tak spatřila světlo světa hexaploidní forma pšenice *Triticum aestivum* AABBDD (Gill a kol., 2004). Každé písmeno zde reprezentuje jednu kopii genomu představovanou sedmi chromozómy.

## 11 DRÁHY INDUKUJÍCÍ KVETENÍ U PŠENICE A JEČMENE

Stejně jako u *Arabidopsis*, tak i u pšenice byly objeveny dráhy, které řídí načasování doby kvetení. Doba kvetení je řízená fotoperiodickou dráhou (*Ppd*), vernalizační dráhou (*Vrn*), a významnou roli zde hrají také geny ranosti *per se* (*Eps*). Porovnáním drah doby kvetení u *Arabidopsis* a obilovin bylo zjištěno, že vernalizace je řízena rozdílnými MADS-box geny, ale interakce vernalizace a fotoperiody mají podobné mechanismy (Trevaskis a kol., 2007).

### 11.1 PHOTOPERIODICKÁ DRÁHA

Délka dne hraje v indukci kvetení důležitou roli, protože bez požadované délky denního světla by rostliny nemohly vykvést. Pšenice i ječmen jsou dlouhodobní rostliny, proto kvetou, až když délka dne překročí kritickou délku. Fotoperioda delší než 14 hodin významně urychluje kvetení. U *Arabidopsis thaliana* je fotoperiodická dráha řízená geny *GI*, *FKF1*, *CO* a *FT*. Signál v listech je přijímán skupinou fytochromů a cryptochromy. Nejdůležitějším genem je *CO*, protože jeho produkt přímo aktivuje gen *FT*, který je částí florigenového signálu (Chailakhyan, 1936) a aktivuje přeměnu apikálního meristému na reproduktivní. U pšenice a ječmene byly rovněž nalezeny homologní geny ke genům *Arabidopsis*. (Nemoto a kol., 2003)

Odpověď na fotoperiodu je řízená skupinou fotoperiodických genů (*Ppd*). U pšenice se nachází na krátkém raménku chromozómů *2A*, *2B* a *2D* - *Ppd-A1*, *Ppd-B1* a *Ppd-D1* (Mohler a kol., 2004) a u ječmene na chromosomu *2HS* – *Ppd-H1* (Laurie a kol., 1997). Právě dominantní alela *Ppd-H1* odpovídá za časně kvetení ječmene za dlouhého dne (Laurie a kol., 1995). Vnesením dominantní alely genu necitlivosti k photoperiodě *Ppd-D1* do genomu moderních odrůd spolu s genem *Rht* pro krátkostébelnatost přineslo v 60. letech „Zelenou revoluci“ (Borlaug) a pěstování pšenice se mohlo rozšířit do subtropických oblastí, kde dříve nemohlo být dosaženo úrody (Pánková a kol., 2011). *Ppd* geny ječmene i pšenice patří do genové rodiny *PRR* (*Pseudo response regulators*) (Turner a kol., 2005) U ječmene a pšenice citlivé na světlo *Ppd1* urychluje kvetení up-regulací genu *VRN3* za dlouhého dne. U ječmene bylo také prokázáno, že za dlouhého dne mutace v *CCT*-doméně *Ppd1* genu mění periodické načasování genu *CO* a omezuje indukci *VRN3* (Distelfeld a kol., 2009). U pšenice je delece na *Ppd-D1* promotoru zodpovědná za zvýšení exprese *VRN3* za krátkých dnů. Gen *CO* je jedním z nejdůležitějších genů fotoperiodické dráhy a podílí se na regulaci kvetení nejen u

dlouhodobých, ale i u krátkodobých rostlin. U dlouhodobých rostlin je gen *FT* aktivován na světle, u krátkodobých krátkým dnem. K *CO* byly identifikovány tři orthologní geny u pšenice *TaHd1-1*, *TaHd1-2* a *TaHd1-3* lokalizované na chromozómech 6A, 6B a 6D (Nemoto a kol., 2003). Na druhé straně byl identifikován pšeničný gen *CO* (*WCO1* nebo také *TaCO1*) lokalizovaný na homologní skupině 7 (Shimada a kol., 2009). Homologní geny pro *TaCO1* byly oddělené jako *TaCO-B1* a *TaCO-D1* lokalizované na chromozómech 7B a 7D. Rovněž byly u pšenice a ječmene identifikovány homologní geny ke genu *GIGANTEA* u *Arabidopsis*. Gen *HvGI* byl nalezen na krátkém raménku chromozómu 3H a vykazoval silnou podobnost s *GI* u rýže a u *Arabidopsis* (Dunford a kol., 2005). Pšeničný gen *TaGI* byl rovněž izolován a byla potvrzena jeho exprese v listech řízená fotoperiodou (Zhao a kol., 2005).

## 11.2 VERNALIZAČNÍ DRÁHA

Nejen u *Arabidopsis*, ale i u *Triticum aestivum* L. nebo *Hordeum vulgare* L. bylo zjištěno, že dlouhodobé vystavení chladu (jarovizace) urychluje kvetení. Tento proces je u ozimé pšenice řízený geny *Vrn*, jejichž funkcí je zablokování vývoje před dosažením fáze tzv. „double ridge” a odblokování nastává v průběhu chladových procesů. Původní alely genů *Vrn* jsou recesivní. Jejich mutované formy (dominantní alely) signalizují ztrátu tohoto nároku u jarních odrůd. U ozimé pšenice může být vernalizace úplně nebo částečně nahrazena krátkým dnem nebo vysokou intenzitou záření. U ozimého ječmene naopak dlouhodobou tmou.

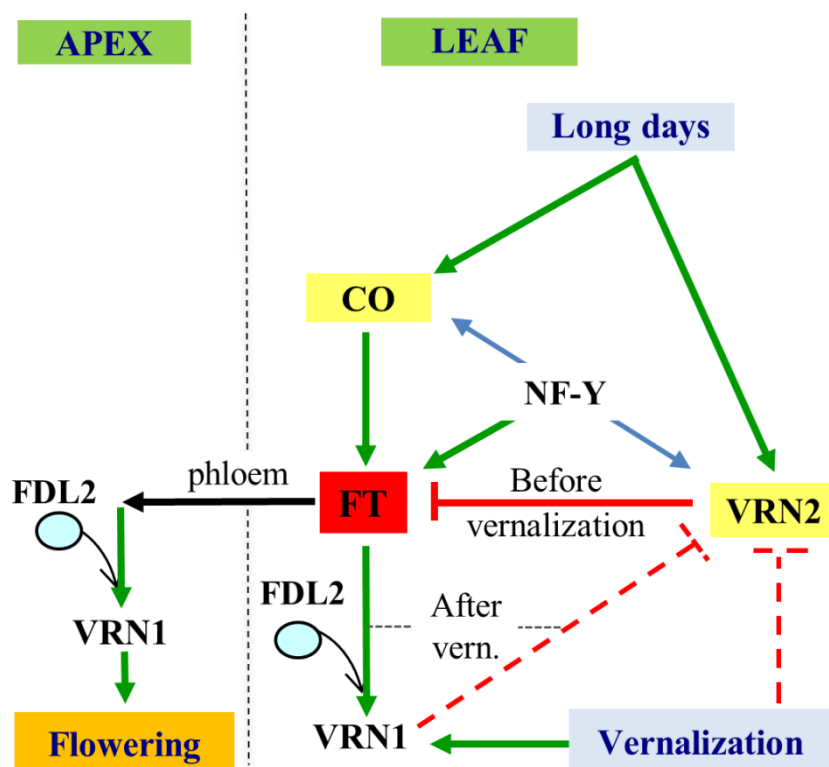
Tyto geny jsou lokalizované především na chromozómech skupiny 5 dlouhého raménka 5A, 5B a 5D (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn 2*) a na chromozómu 7B (*Vrn-B3*). Při jejich zkoumání bylo zjištěno, že nejenom regulují vernalizační procesy, ale také řídí kvetení za dlouhých dnů. *VRN1* kóduje *MADS-box* transkripční faktor, *VRT2* a *CAR-G-box*, což je místo v oblasti promotoru. U diploidní pšenice s delecí v *CAR-G*-boxu a zimním habitem bylo zjištěno pravděpodobné regulační místo pro vernalizaci *VRN*-box. *CAR-G*-box může být začleněn i ve fotoperiodické regulaci (Distelfeld a kol., 2009). V diploidní pšenici jsou alely s *CAR-G*-boxem a *VRN*-boxem nebo *CAR-G*-boxem a prvním intronem spřažené s vyšší mírou exprese *VRN1* za krátkého dne (Distelfeld a kol., 2009). *VRN1* je indukovaný vernalizací v listech a urychluje přechod do reprodukční fáze. Také působí v apikálním meristému jako gen *APETALA* u *Arabidopsis*. *VRN1* gen patří mezi represory genu *VRN2*. V isogeních liniích hexaploidní pšenice nesoucí různé kombinace dominantních a recesivních alel *VRN-A1*, *VRN-B1* a *VRN-D1*, jedině produkty dominantních alel jsou detekované v listech nevernalizovaných rostlin (Distelfeld a kol., 2009). Redukce *VRN2* je pozorována až po transkripci dominantní *VRN1*. Za krátkých dní jsou hladiny *VRN1* vyšší u vernalizovaných rostlin. *VRN1* kóduje *APETALA*-like *MADS*-box transkripční faktor, třídu *MADS*-box genů, která řídí identitu meristému v místě růstu (Trevaskis a kol., 2007).

Druhým významným genem vernalizace je *VRN2*. Obsahuje oblast se dvěma *ZCCT* geny kódující proteiny se *Zn*-prstem a *CCT* doménou (*CO*, *CO-like* a *TOC1*), podobnou té, jakou má *CO* (Yan a kol., 2004). Tyto dva geny slouží jako represory kvetení tak, že potlačují expresi genu *VRN3*, dokud rostlina neprojde vernalizací. Mutace v této oblasti nebo delece celého genu *VRN2* mají za následek recesivní alely jarního habitu v diploidní pšenici a ječmeni (Yan a kol., 2004; Dubcovsky a kol., 2005). Účinek alelického rozdílu *VRN2* genu na dobu kvetení je potlačen nebo eliminován mutacemi v promotoru nebo v prvním intronu



*VRN1* u pšenice i ječmene (Dubcovsky a kol., 2005). Když jsou rostliny vernalizované, exprese *VRN2* klesá za dlouhého dne, zatímco exprese *VRN1* stoupá. *VRN2* gen je dominantní represor kvetení, down-regulovaný vernalizací a krátkým dnem (Yan a kol., 2004, Trevaskis a kol., 2006). Snížení hladiny transkriptů *VRN2* pomocí RNA interference (*RNAi*) v hexaploidní odrůdě ozimé pšenice Jagger výrazně urychluje kvetení (Yan a kol., 2004). Obecné schéma působení *VRN* genů v závislosti na určité délce dne je znázorněno na Obr. 9.

Obr.9: Schéma působení nízkých teplot a délky dne na vernalizační geny (Chen a Dubcovsky, 2012)

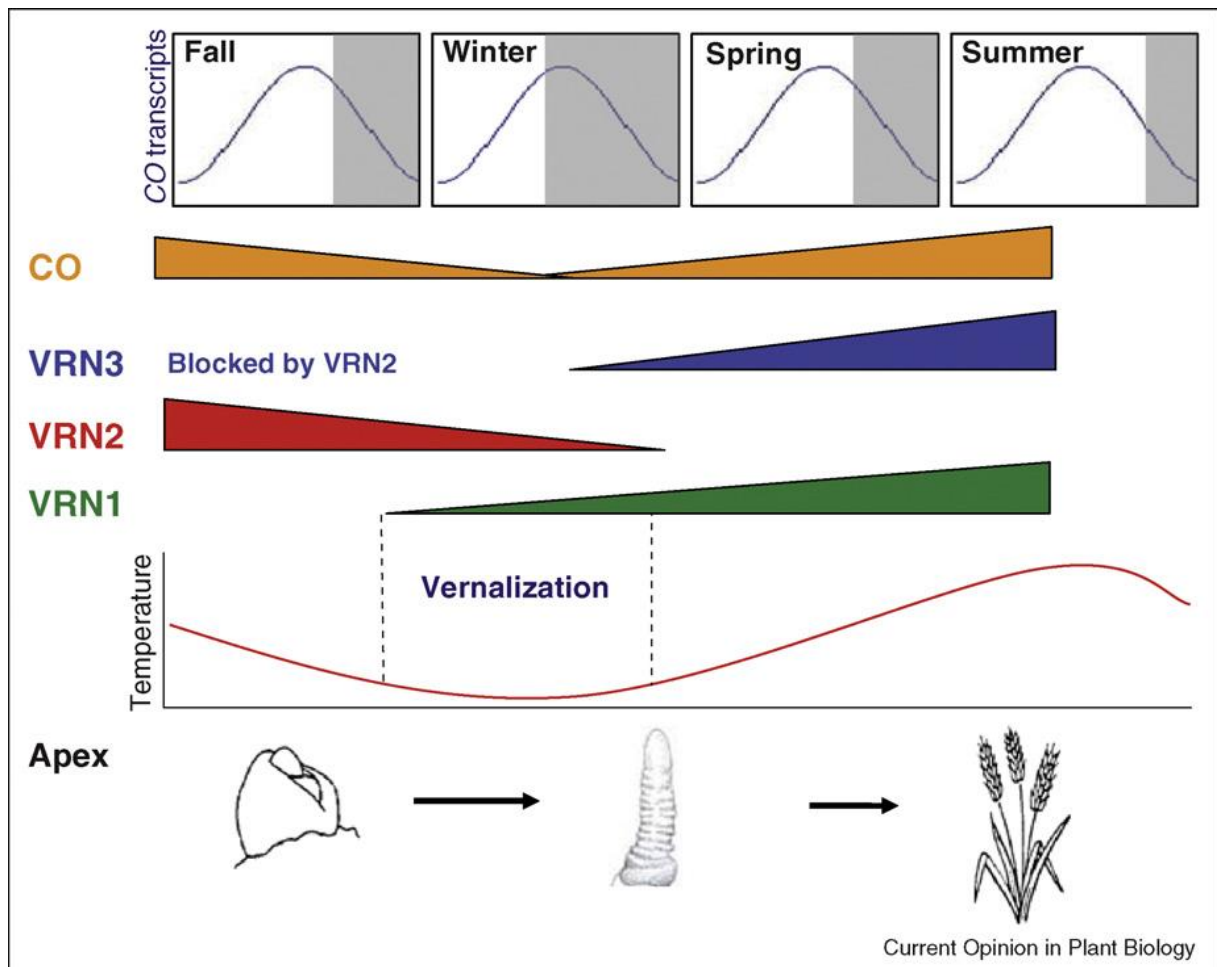


Na obrázku 9 je znázorněno, jak je vernalizační a fotoperiodický signál přemístěn z listů do apikálního meristému. Za dlouhého dne je hladina genu *VRN2* vysoko a potlačuje expresi genu *VRN3* (*FT*). Po projití vernalizace dochází k nárustu exprese *VRN1*, který v listech působí na *FT*. Ten je transportován do apexu, kde společně s *FDL2* proteinem startuje reprodukční vývoj.

*VRN3* gen (také *TaFT1* a u ječmene *HvFT1*) je ortologem genu *FT* u *Arabidopsis* (Yan a kol., 2006) a kóduje *RAF*- kinázový inhibitor like protein. Proto se usuzuje, že *VRN3* slouží jako hlavní integrátor vernalizačního a fotoperiodického signálu u obilovin mírného pásma (Li a kol., 2011). *VRN3* je indukován dlouhými dny a rovněž řídí reprodukční vývoj

apikálního meristému jako *VRN1*. Studie ukazují, že negativní regulace *VRN3* transkripce genem *VRN2* je řízená soutěžením mezi *VRN2* a *CO* proteinem o navázání na rodinu transkripčních faktorů NUCLEAR FACTOR-Y (NF-Y) (Li a kol., 2011; Chen a Dubcovsky, 2012).

Obr.10: Regulace vernalizačních a fotoperiodických genů změnami vnějšího prostředí ve fotoperiodicky-citlivých obilovinách (převzato z Distelfeld a kol., 2009).



Podle Obr. 10 jsou geny kvetení ovlivněny délkou dne a chladovými podmínkami. Na podzim jsou dny ještě dlouhé a tím pádem je *VRN3* potlačen genem *VRN2* a ten zároveň zabraňuje indukci *VRN1* genu. Nástup vernalizace způsobí zvýšení exprese *VRN1*, což způsobuje snížení exprese genu *VRN2*. Nízké stupně *VRN2* způsobují up-regulaci genu *VRN3* za dlouhých dní na jaře procesem řízeným fotoperiodickými geny *PPD1* a *CO*. *VRN3* protein je následně exportován plazmodezmaty do vrcholového apikálního meristému, kde nadále podporuje expresi *VRN1* až nad hranici nutnou pro indukci kvetení. Vegetativní apikální

meristém přestane produkovat listy a začne vytvářet květní primordia (Distelfeld a kol., 2009).

### 11.3 GENY RANOSTI *PER SE*

Po objevení délky dne a fotoperiody jako hlavních činitelů doby kvetení v roce 1981 Ford a kolektiv oznámili existenci třetí skupiny genů, která působí na dobu kvetení u pšenice a nazvali ji geny ranosti nebo-li *earliness per se (eps)*. *Eps* geny ovlivňují dobu do dosažení kvetení v řádech několika dnů modifikací ranosti daných genotypů finálním doladěním vnitřních procesů kvetení a zodpovídají za rozsáhlé adaptace pšenice k různým podmínkám (Pánková a kol., 2011). *Eps* geny jsou mnohem více začleněny do menších modulací kvetení s malým působením (Snape a kol., 2001). *Eps* jsou převážně značeny *QTL* (quantitative traits loci) a jsou rozšířené po celém genomu pšenice a ječmene. *Earliness per se* působí na obě fáze vegetativní a rané reprodukční nezávisle na sobě rozdílným způsobem (Slafer, 1996). Rozdíly v době kvetení jednou fotoperioda a vernalizace jsou připisovány právě genům *per se* (Lewis a kol., 2008). Tato variabilita je důležitá ke konečnému vyladění kvetení a může být využita k maximalizování výnosu v různých podmínkách pěstování kulturní pšenice. Geny ranosti jsou rovněž nezávislé na vnějších podmínkách. Vzhledem k tomu, že *Eps* geny zahrnují geny ovlivňující dobu kvetení, které nejsou zapojeny do další vernalizační nebo fotoperiodické dráhy, mohly by být heterogenní skupinou s proměnlivými účinky na různé vývojové fáze.

Molekulární základ funkce *Eps* genů je málo pochopený a poziční klonování velkých a komplexních genomů pšenice a ječmene je stále náročným úkolem (Lewis a kol., 2008). Jako modelová rostlina pro studium a klonování *Eps* genů byla vybrána diploidní pšenice *Triticum monococcum L.*, protože nemá tak složitý genom. Byly prováděny analýzy individuálních *Eps* genů, působících na různá vývojová stádia pšenice, následované mapováním. Díky těmto metodám byly nalezeny geny *Eps – A<sup>m</sup>1*, *Eps-3Am* a *Eps-5Am* geny. Gen *Eps-A<sup>m</sup>1* se nachází na distálním konci dlouhého raménka chromozómu *1A<sup>m</sup>L* a byl klonován a zmapován (Lewis a kol., 2008, Valárik a kol., 2006). Bylo zjištěno, že při řízených podmínkách pozdní alela genu *Eps – A<sup>m</sup>1* zpožďovala kvetení při 23°C o 40 dní, ovšem při 16°C byl rozdíl ve zpoždění 80 dní. Tyto analýzy ukázaly, že pozdní alela zpožďovala přechod do reprodukční fáze a negativně působila na délku přechodu z fáze „double ridge” do utváření terminálního klásku.

Tím se ukázalo, že jeho efekt byl řízený teplotou (Lewis a kol., 2008). Gen *Eps-A<sup>m1</sup>* rovněž vykazuje pleiotropní účinek, jelikož má vliv na dobu od výsevu semena až do začátku fáze „double ridge” a rovněž působí na utváření terminálního klásku a na počtu klásků na vrcholu. Právě pleiotropní účinek vykazují všechny geny, které se podílí na indukci kvetení a rovněž tento efekt vykazují i *Eps* geny (Lewis a kol., 2008; Milec a kol., 2014). Následně byly identifikovány další geny *Eps-3A<sup>m</sup>* a *Eps-5A<sup>m</sup>* a v obou těchto případech byly geny silně závislé na vnějších podmínkách, takže nesplňovaly více uvedené předpoklady. *Eps-5A<sup>m</sup>* gen se silně projevoval pouze za uměle vytvořených podmínek (Shindo a kol., 2002) a *Eps-3A<sup>m</sup>* gen zase způsoboval rozdíly ve kvetení během 10 dnů (Gawroński a Schnurbusch, 2012).

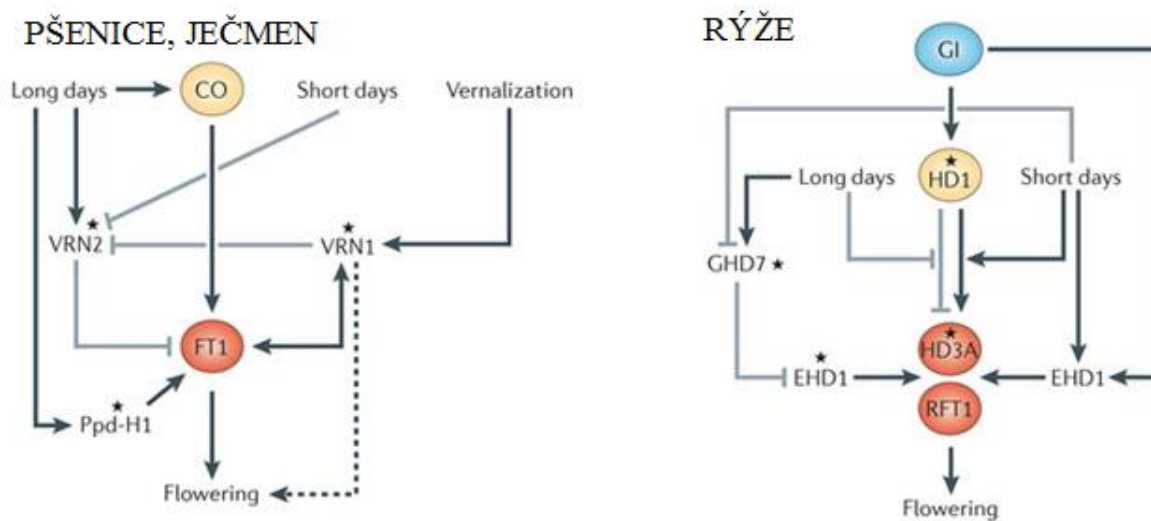
## 12 RÝŽE SETÁ

Rýže (*Oryza sativa*) je modelovým organismem jednoděložných rostlin. V porovnání s *Arabidopsis* je to tropická fakultativně krátkodenní rostlina a kvetení je iniciováno krátkou délkou dne (Brambilla a kol., 2013). Rýže byla domestikována před deseti tisíci lety v oblasti Asie a od té doby expandovala dál na sever a do oblastí mírného pásma (Izawa, 2007; Huang a kol., 2012). Přizpůsobení se severním oblastem vyžadovalo redukci citlivosti k fotoperiodě, dovolující rostlinám kvést rychle za delšího dne před začátkem zimy. U rýže se vyskytují geny podobné genům *Arabidopsis thaliana*, ale zároveň využívá specifické geny, které nejsou společné dvouděložným rostlinám (Doi a kol., 2004; Xue a kol., 2008; Brambilla a kol., 2013). Molekulární mechanismy řízení doby kvetení v závislosti na délce dne jsou rovněž podobné.

Pomocí metody *QTL* byly identifikovány geny ovlivňující kvetení tzv. „heading date” (*Hd*) u rýže (Yano a kol., 1997). *Hd1* až *Hd5* jsou hlavní geny řídící odpověď kvetení na délku dne. *Hd1* a *Hd2* alely vykazovaly předpoklady co by krátkodenní květní promotory s velkým účinkem na fenotyp a působící nezávisle na sobě (Yano a kol., 1997). *Hd3a* geneticky interaguje s *Hd1* a *Hd2* a podněcuje tak kvetení za krátkého dne. Alely *Hd4* a *Hd5* zpožďují kvetení za dlouhého dne. Mezi geny *Hd1* a *Hd5* byl nalezen epistatický vztah (Lin a kol., 2003). Klonováním genů *Hd1* a *Hd3a* bylo zjištěno, že sdílí rozsáhlou sekvenční podobnost s *CO* a *FT*. *Hd1* podporuje expresi *Hd3a* za krátkého dne (Yano a kol., 2000), ale zároveň může potlačovat expresi *Hd3a* za neinduktivních podmínek dlouhého dne (Lin a kol., 2000). Gen *FT* *Arabidopsis* má homologní gen u rýže. Molekulární studie ukázaly, že *Hd3a* protein je tvořený v listech a působí jako florigenový signál, který je přemístěn do vrcholového apikálního meristému, kde indukuje kvetení (Tamaki a kol., 2007). U rýže byl také objeven ortholog genu *GI* *Arabidopsis* nazvaný *OsGI*, který aktivuje expresi *Hd1* (Hayama a kol., 2003), kde *Hd1* je orthologním genem ke genu *CONSTANS* (Hayama a kol., 2003). Následně *Hd1* up-reguluje *Hd3a* zatímneznámým způsobem. Dalším důležitým aktivátorem je *EARLY HEADING DATE 1* (*Ehd1*), který působí v regulační dráze nezávislé na *Hd1*, jak je prezentováno na Obr. 8 (Doi a kol., 2004). Tento gen je specifický pouze pro rýži a nemá žádné orthologní geny u *Arabidopsis*. Za dlouhého dne je exprese *Hd3a* potlačena, protože, *Hd1* se za neinduktivních podmínek dlouhého dne mění na represor kvetení (Izawa a kol., 2002). Přes gen *Ehd1* působí mnoho dlouhodobých represorů. Jsou to například *Ghd7* nebo *Ghd8*. *Ghd8* potlačuje kvetení za dlouhého dne, ale za krátkého dne kvetení podporuje. Další dlouhodobí represor je kódovaný *Os-MADS56* genem (Ryu a kol., 2009). I když je rýže

krátkodenní rostlina může vykvetít i za neinduktivních podmínek. Toho se účastní klíčový regulátor, který podporuje kvetení za dlouhého dne. Protein vyvolávající kvetení je kódován *FLOWERING LOCUS T* genem rýže (*RFT1*), který sdílí sekvenční podobu s *Hd3a*. *RFT1* je exprimován v listech a současně vyřazuje *Hd3a* a *RFT1* a tím chrání rostlinu před předčasným vykvetením, až nastanou induktivní podmínky krátkého dne. Potom je transportován do apikálního meristému. To naznačuje, že rýže může produkovat dvojitý florigenový signál. Další analýzy *RFT1* ukázaly, že se může uplatňovat jako hlavní florigenový signál za dlouhého dne. *RFT1* je regulován *OsMADS50* genem (orthologní ke genu *SOC1*) přes *Ehd1*. Po aktivaci *Hd3a* interaguje s 14-3-3 proteiny a tento komplex se spojuje s rýžovým *OsFD1* transkripčním faktorem (ortholog *FD*). Celý komplex následně vyvolává transkripci *OsMADS15* genu (ortholog *API*), který navozuje kvetení.

Obr. 11: Indukce doby kvetení u rýže, pšenice a ječmene (upraveno z Andrés a Coupland, 2012).



Obrázek 11 nám popisuje rozdíl v indukci kvetení u pšenice a rýže. Rýžový homolog *CO Hd1* potlačuje kvetení za dlouhého dne inhibicí transkripce genu *Hd3a*, ale za krátkého dne podporuje transkripci *FT-like* genů *Hd3a* a *RFT1*. *Ghd7* je represor kvetení za dlouhého dne a potlačuje transkripci *Ehd1*, ale za krátkého dne *Ehd1* aktivuje transkripci *Hd3a* a *RFT1* (Andrés a Coupland, 2012).

## 13 ZÁVĚR

Studium doby kvetení a jeho osvětlení molekulárních mechanismů započalo u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* díky jejím výhodným vlastnostem. Postupem času se výzkum logicky přesunul i na hospodářsky významné plodiny, jako jsou ječmen setý nebo potravinářská pšenice. U *Arabidopsis thaliana* bylo objeveno několik regulačních drah řídicích kvetení, ve kterých působí různé geny. Jednou z nejlépe prostudovaných drah je photoperiodická dráha, ve které působí gen *CONSTANS*, který je pozitivně regulován genem *GIGANTEOU*. Gen *CONSTANS* má rovněž homologní geny u pšenice seté a ječmene. Produkt genu *CONSTANS* aktivuje transkripci genu *FLOWERING LOCUS T*, který je součástí florigenového signálu. Florigen působí na vegetativní apikální meristém a zahajuje jeho přechod do reproduktivní fáze. Na dobu kvetení má vliv i kvalita světla, které je přijímáno phytochromy a cryptochromy. V našich zeměpisných šířkách je rizikové nepříznivé chladové období. Rostliny si proto vytvořily adaptační mechanismy, které jim zabraňují vykvést na podzim. Rostliny musí projít několikátýdenním chladovým obdobím, aby mohly brzo z jara začít kvést. Tento proces zvaný vernalizace je řízený vernalizačními geny *VRN*. Vernalizace působí přes inhibici květního represoru *FLOWERING LOCUS C*, který zabraňuje rostlinám vykvést na podzim. U obilovin byly rovněž nalezené homologní geny. Gen *VRN3* je homologním genem k *FT*, tudíž slouží jako iniciátor doby kvetení v apikálním meristému.

Pšenice spolu s ječmenem a rýží patří mezi základní plodiny pěstované ve všech oblastech mírného pásma. Proto se tyto rostliny staly předním zájmem vědeckých studií. Snaha optimalizovat výnos a zemědělskou produkci je aktuální i dnes, kdy přibývá světové populace. Mechanismy doby kvetení u pšenice nejsou zdaleka tak dobře pochopeny jako u *Arabidopsis* z důvodu složitosti genomu. Celkem dobře je prozkoumána fotoperiodická dráha s vernalizační drahou. Doba kvetení je ale řízená i třetí skupinou genů, které jsou zodpovědné za finální vyladění. Když už všechny aspekty nabádají k tomu, že je čas vykvést, součinností genů *Eps* je umožněn přechod do reproduktivní fáze.

Přesné pochopení molekulárních mechanismů způsobujících indukci doby kvetení má pro lidstvo velký význam. Studium přírodních zákonitostí na modelových organismech, jako je *Arabidopsis thaliana* přispělo k objasnění základních fyziologických procesů u rostlin. Předpokládá se, že toto poznání v budoucnu umožní rozvoj biotechnologií, které povedou k dosažení zvýšené zemědělské produkce pšenice a ječmene.

## 14 POUŽITÁ LITERATURA

Abe a kol. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex *Science* 12 August 2005: Vol. 309 no. 5737 pp. 1052-1056

Achard a kol. 2004 Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA *Development* 131, 3357-3365.

Andrés F, Coupland G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nat Rev Genet* 2012;13:627–39.

Blazquez, M.A., Green, R., Nilsson, O., Sussman, M.R., and Weigel, D. (1998). Gibberellins promote flowering of *Arabidopsis* by activating the *LEAFY* promoter. *Plant Cell* 10, 791–800.

Borlaug N. E. 1983 Contributions of conventional plant breeding to food production. *Science* 219, 689–693

Bowman, J.L., Alvarez, J., Weigel, D., Meyerowitz, E.M., and Smyth, D.R. (1993). Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by *APETALA1* and interacting genes. *Development* 119, 721–743

Brambilla Vittoria and Fabio Fornara. Molecular Control of Flowering in Response to Day Length in Rice *Journal of Integrative Plant Biology*. Volume 55, Issue 5, pages 410–418, May 2013

Burn JE, Bagnall DJ, Metzger JD, Dennis ES, Peacock WJ: DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90 :287-291.

CG, Li XH, et al (2008) Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet* 40: 761–76



Coen, E.S., Romero, J.M., Doyle, S., Elliot, R., Murphy, G., and Carpenter, R. (1990). *Floricula*: A homeotic gene required for flower development in *Antirrhinum majus*. *Cell* 63, 1311–1322.

Distelfeld A., Li C. and Dubcovsky J. 2009 Regulation of flowering in temperate cereals. *Curr. Opin. Plant Biol.* **12**, 178–184

Doi K, Izawa T, Fuse F, Yamanouchi U, Kubo T, Shimatani Z, Yano M, Yoshimura A. 2004. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of Hd1. *Genes and Development* 18, 926–936.

Dubcovsky J, Chen CL, Yan LL. 2005. Molecular characterization of the allelic variation at the VRN-H2 vernalization locus in barley. *Molecular Breeding* 15,395–407.

Dunford R, Griffiths S, Christodoulou V, Laurie DA. Characterisation of a barley (*Hordeum vulgare* L.) homologue of the *Arabidopsis* flowering time regulator GIGANTEA. *Theor Appl Genet* 2005;110:925–31.

Ford, M. A., R.B. Austin, W.J. Angus & G.C.M. Sage. 1981. Relationships between the responses of spring wheat genotypes to temperature and photoperiodic treatments and their performance in the field. *J. Agric. Sci.* 96: 623–634.

Franco-Zorrilla a kol. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. *Nature Genetics* 39, 1033 – 1037, 2007

Gawroński P, Schnurbusch T. High-density mapping of the earliness per se-3Am (*Eps-3A m*) locus in diploid einkorn wheat and its relation to the syntenic regions in rice and *Brachypodium distachyon* L. *Mol Breed* 2012;30:1097–108.

Georges Bernier a kol. A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* 2005; 3: 3– 16.

Gill a kol. International Genome Research on Wheat Consortium Genetics October 1, 2004  
vol. 168

Gu, Q., Ferrandiz, C., Yanofsky, M.F., and Martienssen, R. (1998). The FRUITFULL MADS-box gene mediates cell differentiation during Arabidopsis fruit development. *Development* 125, 1509–1517.

Hayama R, Yokoi S, Tamaki S, YanoM, Shimamoto K. Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. *Nature* 2003;422:719–22.

Hendrych 1977. Systém a evoluce vyšších rostlin

Heo JB, Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science* 2011;331:76–9.

Huang X, Zhao Y, Wei X, Li C, Wang A, Zhao Q, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nat Genet* 2012;44:32–9.

Chailakhyan MK. New facts in support of the hormonal theory of plant development. *C R Acad Sci URSS* 1936;13:79–83.

Chen A, Dubcovsky J. Wheat TILLING mutants show that the vernalization gene VRN1 down-regulates the flowering repressor VRN2 in leaves but is not essential for flowering. *PloS Genet* 2012;8:e1003134.

Chen, X. (2004). A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in Arabidopsis flower development. *Science* 303, 2022–2025.

Izawa T, Oikawa T, Sugiyama N, Tanisaka T, Yano M, Shimamoto K. Phytochrome mediates the external light signal to repress FT orthologs in photoperiodic flowering of rice. *Genes Dev* 2002;16:2006–20.

Izawa T. Adaptation of flowering-time by natural and artificial selection in Arabidopsis and rice. *J Exp Bot* 2007;58:3091–7.

Jack T. Molecular and genetic mechanisms of floral control. *Plant Cell* 2004;16(Suppl.): S1–S17.

Jack, T., Sieburth, L. E. and Meyerowitz, E. M. (1993). Genes that control flower development in Arabidopsis. *Semin. Dev. Biol.* 4, 51-63.

Jofuku, K.D., den Boer, B.G.W., Van Montagu, M., and Okamoto, J.K. (1994). Control of Arabidopsis flower and seed development by the homeotic gene APETALA2. *Plant Cell* 6, 1211–1225.

Johanson U, West J, Lister C, Michaels S, Amasino R, Dean C. 2000. Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in Arabidopsis flowering time. *Science* 290, 344–347.

Jung a kol. The GIGANTEA-regulated microRNA172 mediates photoperiodic flowering independent of CONSTANS in Arabidopsis. *The Plant Cell* 2007, vol. 19 no. 9 2736-2748

King RW, Moritz T, Evans LT, Martin J, Andersen CH, Blundell C, Kardailsky I, Chandler PM. Regulation of flowering in the long day grass, *Lolium temulentum* L., by gibberellins and the gene, FLOWERING LOCUS T (FT). *Plant Physiology* 2006;141:498-507.

Koornneef M, van der Veen JH. Induction and analysis of gibberellin sensitive mutants in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. *Theoretical and Applied Genetics* 1980;58:257-263.

Kvaček Z. a kol. (2000): Základy systematické paleontologie I.

Laurie DA. Comparative genetics of flowering time. *Plant Mol Biol* 1997;35:167–77.

Lee J, Oh M, Park H, Lee I. SOC1 translocated to the nucleus by interaction with AGL24 directly regulates leafy. *Plant J* 2008;55:832–43.

Lewis S, Faricelli ME, Appendino ML, Valárik M, Dubcovsky J. The chromosome region including the earliness per se locus Eps-A<sup>m</sup>1 affects the duration of early developmental phases and spikelet number in diploid wheat. *J Exp Bot.* 2008;59(13):3595–3607

Li Ch, Distelfeld A, Comis A, Dubcovsky J. Wheat flowering repressor VRN2 and promoter CO2 compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes. *Plant J* 2011a;67:763–73.

Lin, H.X., Liang, Z.W., Sasaki, T., and Yano, M. (2003). Fine mapping and characterization of quantitative trait loci Hd4 and Hd5 controlling heading date in rice. *Breeding Sci.* 53, 51–59.

Lin, T Yamamoto, T Sasaki, M Yano Characterization and detection of epistatic interactions of 3 QTLs, Hd1, Hd2, and Hd3, controlling heading date in rice using nearly isogenic lines *Theor Appl Genet* 101, 1021-1028, 2000

Lin, Y. Lin, K. Calame Repression of c-myc is necessary but not sufficient for terminal differentiation of B lymphocytes in vitro *Mol. Cell. Biol.*, 20 (2000), pp. 8684–8695

Liu, Y.C. Zhang, Q.H. Li, Y. Sang, J. Mao, H.L. Lian, L. Wang, Q.H. Yang COP1-mediated ubiquitination of CONSTANS is implicated in cryptochrome regulation of flowering in Arabidopsis *Plant Cell*, 20 (2008), pp. 292–306

Maarten Koornneef, Carlos Alonso-Blanco, Anton J. M. Peeters, and Wim Soppe. GENETIC CONTROL OF FLOWERING TIME IN ARABIDOPSIS. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* Vol. 49: 345-370

Mathieu a kol. Repression of Flowering by the miR172 Target SMZ. 10.1371/journal.pbio.1000148. 2009

Mohler V, Lukman R, Ortiz-Islas S, William M, Worland A, Beem J, et al. Genetic and physical mapping of photoperiod insensitive gene Ppd-B1 in common wheat. *Euphytica* 2004:33–40.

Moon, J., Suh, S.S., Lee, H., Choi, K.R., Hong, C.B., Paek, N.C., Kim, S.G., and Lee, I. (2003). The SOC1 MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in Arabidopsis. *Plant J.* 35, 613–623.

Nemoto Y, Kisaka M, Fuse T, Yano M, Ogihara Y. Characterization and functional analysis of three wheat genes with homology to the CONSTANS flowering time gene in transgenic rice. *Plant J* 2003;36:82–93.

Novák a Skalický 2009. *Botanika vyšších rostlin*

Pánková a kol. VYHLEDÁVÁNÍ A IDENTIFIKACE NOVÝCH GENŮ A ALEL OVLIVŇUJÍCÍCH PROCESY KVETENÍ PŠENICE PRO DOSAHOVÁNÍ VYŠŠÍCH VÝNOSŮ V DOBĚ MĚNÍCÍHO SE KLIMATU. *Úroda, vědecká příloha*, 2011, s. 445 – 454

PARCY F . Flowering: a time for integration. *Int. J. Dev. Biol.* 49: 585-593 (2005)

Parenicova, L., de Folter, S., Kieffer, M., Horner, D.S., Favalli, C., Kater, M.M., Davies, B., Angenent, G.C., and Colombo, L. (2003). Molecular and phylogenetic analyses of the complete MADS-box transcription factor family in Arabidopsis: New openings to the MADS world. *Plant Cell* 15, 1538–1551.

Pavel Lízal a Jiřina Relichová. The effect of day length, vernalization and DNA demethylation on the flowering time in Arabidopsis thaliana. *Physiologia Plantarum* Volume 113, Issue 1, pages 121–127.

Poethig. Small RNAs and developmental timing in plants. *Current Opinion in Genetics & Development* 2009 , Volume 19, Issue 4, Pages 374–378

Prášil Ilja Tom. Kdy kvete pšenice a neb co lze vyčíst z přečteného genomu. 2009 *Vesmír* 88.

Procházka. *Fyziologie rostlin* 1998

Ryu a kol. OsMADS50 and OsMADS56 function antagonistically in regulating long day (LD)-dependent flowering in rice. *Plant, Cell & Environment* 2009. Volume 32, Issue 10, pages 1412–1427

Samach A. Control of flowering. *Plant Biotechnology and Agriculture*, Elsevier Inc.; 2012387–404.

Shimada S, Ogawa T, Kitagawa S, Suzuki T, Ikari C, Shitsukawa N, et al. A genetic network of flowering-time genes in wheat leaves, in which an APETALA1/FRUITFULL-like gene, VRN1, is upstream of FLOWERING LOCUS T. *Plant J* 2009;58:668–81.

Shindo C, Sasakuma T, Watanabe N, Noda K. Two-gene systems of vernalization requirement and narrow-sense earliness in einkorn wheat. *Genome* 2002;1: 563–9.

Schultz, E.A. and Haughn, G.W. 1993. Regulation of the floral initiation process (FLIP) in *Arabidopsis*. *Development* 119: 745-765.

Schwab a kol. Highly Specific Gene Silencing by Artificial MicroRNAs in *Arabidopsis*. *American Society of Plant Biologists The Plant Cell* May 2006 vol. 18 no. 5 1121-1133.

Slafer G. Differences in phasic development rate amongst wheat cultivars independent of responses to photoperiod and vernalization. A viewpoint of the intrinsic earliness hypothesis. *J Agri Sci* 1996;126:403–19.

Snape JW, Butterworth K, Whitechurch E, Worland A. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica* 2001;119:185–90.

Sung S, Amasino RM. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Curr Opin Plant Biol* 2004:4–10.

Štorchová. Molekulární genetika rozluštila záhadu florigenu, faktoru navozujícího kvetení. 2008. *Živa* 100-102.

Tamaki S, Matsuo S, Wong HL, Yokoi S, Shimamoto K. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* 2007;316:1033–6.

Todesco a kol. A Collection of Target Mimics for Comprehensive Analysis of MicroRNA Function in *Arabidopsis thaliana*. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001031, 2010

Trevaskis B, Hemming M, Peacock WJ, Dennis E. HvVRN2 responds to daylength, whereas HvVRN1 is regulated by vernalization and developmental status<sup>1</sup>. *Plant Physiol* 2006;140:1397–405.

Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ (2007) The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends Plant Sci* 12:352–357

Turner A, Beales J, Faure S, Dunford R, Laurie DA. The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science* 2005;310:1031–4.

Valárik M, Linkiewicz A, Dubcovsky J. Amicrocolinearity study at the earliness per se gene Eps-A(m)1 region reveals an ancient duplication that preceded the wheat-rice divergence. *Theor Appl Genet* 2006;112:945–57.

Wang J, Czech B, Weigel D. miR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 2009;138:738–49.

Wilson, R.N., Heckman, J.W., and Somerville, C. (1992). Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days. *Plant Physiol.* 100, 403–408.

Wu a kol. The Sequential Action of miR156 and miR172 Regulates Developmental Timing in *Arabidopsis*. *Cell* 2009. Volume 138, Issue 4, 750–759.

[www.Web2.mendelu.cz](http://www.Web2.mendelu.cz)

[www.Nature.com](http://www.Nature.com)

Xue WY, Xing YZ, Weng XY, Zhao Y, Tang WJ, Wang L, Zhou HJ, Yu SB, Xu

Yan L, Fu D, Li C, Blechl A, Tranquilli G, Bonafede M, et al. The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006:1–6.

Yan L, Loukoianov A, Blechl A, Tranquilli G, Ramakrishna W, SanMiguel P, et al. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* 2004;303:1640–4.

Yano M, Katayose Y, Ashikari M, et al. 2000. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS. *The Plant Cell* 12, 2473–2483.

Yano M., Harushima Y., Nagamura Y., Kurata N., Minobe Y., Sasaki T. (1997). Identification of quantitative trait loci controlling heading date in rice using a high-density linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 95, 1025–1032.

Zbyněk Milec, Miroslav Valárik, Jan Bartoš, Jan Šafář. 2014 Can a late bloomer become an early bird? Tools for flowering time adjustment. *Biotechnology Advances* 32 (2014) 200–214

Zhao, Z., Yu, Y., Meyer, D., Wu, C., and Shen, W.H. (2005). Prevention of early flowering by expression of FLOWERING LOCUS C requires methylation of histone H3 K36. *Nat. Cell Biol.* 7, 1256–1260.



## 15 POUŽITÉ ZKRATKY

AGO – Argonautei

AP1,2 – Apetala 1,2

CAL – Cauliflower

CCA1 – Circadian clock associated 1

CDFs – Cycling dof factors

CO – Cnostans

COP1 – Constitutive photomorphogenic 1

COPS – Controller of phase switching

CRY – Cryptochrome

FLC – Flowering locus C

FLIP – Floral iniciativ process

FKF1 – Flavin kelch F box 1

FMI – Floral meristem identity

FRI – Frigida

FT – Flowering locus T

FUL – Fruitful

GA – Giberelinová kyselina

GI – Gigantea

HD – Heading date

HOS1 – High expression of osmotically responsive gene 1

LHY – Long elongated hypocotyl

LFY – Leafy

PHY – Phytochrome

PPD – Photoperiodic

PRC2 – Polycomb repressive komplex 2

PRR – pseudo respons regulators

QTL – Quantitative trait loci

SOC1 – Supresor of overexpression of constans 1

SPA – Supresor of phytochrome A

TaCO1 – Triticum aestivum constans1

TFL1 – Terminal flower 1

TOC1 – Timing of CAB box1

UFO – Unusual floral organs

VRN – Vernalization

WCO2 – Wheat constans 1